Schistosoma mansoni & Esquistossomose

uma visão multidisciplinar

Omar dos Santos Carvalho
Paulo Marcos Zech Coelho
Henrique Leonel Lenzi
ORGANIZADORES

Schistosoma mansoni & Esquistossomose

uma visão multidisciplinar

Omar dos Santos Carvalho
Paulo Marcos Zech Coelho
Henrique Leonel Lenzi
(organizadores)

ISBN: 978-857541-150-6

Capa, projeto gráfico, tratamento de imagens e editoração eletrônica
Adriana Carvalho e Carlos Fernando Reis

Revisão e copidesque
Gustavo Dumas

Normalização de referências
Clarissa Bravo e Gislene Monteiro

Índice
Luís Octavio Gomes de Souza

Supervisão editorial
Marcionílio Cavalcanti de Paiva

Catalogação na fonte
Centro de Informação Científica e Tecnológica
Biblioteca da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca

C331s Carvalho, Omar dos Santos (Org.)

Schistosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar. / organizado por Omar dos Santos Carvalho, Paulo Marcos Zech Coelho e Henrique Leonel Lenzi. – Rio de Janeiro : Editora Fiocruz, 2008.
1.124 p., il., tab., graf.

1. *Schistosoma mansoni*. 2. Esquistossomose. 3. Biologia Molecular. 4. Genômica. 5. *Biomphalaria*. 6. Moluscos. I. Coelho, Paulo Marcos Zech (Org.). II. Lenzi, Henrique Leonel (Org.). III. Título.

CDD - 20.ed. – 614.553

2008
Editora Fiocruz
Av. Brasil, 4036 – 1º andar – sala 112 – Manguinhos
21040-361 – Rio de Janeiro – RJ
Tels.: (21) 3882-9039 e 3882-9041
Telefax: (21) 3882-9006
http://www.fiocruz.br/editora
e-mail: editora@fiocruz.br

Manoel Augusto Pirajá da Silva

Centenário da descoberta do

Schistosoma mansoni no Brasil

(1908 – 2008)

"O incontestável descobridor do *Schistosoma mansoni*"

Edgard de Cerqueira Falcão

Esta obra compõe a Série Esquistossomose (nº 11), do PIDE/FIOCRUZ.

AUTORES

Aluízio Rosa Prata

Médico, livre-docente pela Universidade Federal da Bahia (UFBA), professor visitante e coordenador do Curso de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Infectologia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM).

Álvaro Antônio Bandeira Ferraz

Médico, professor livre-docente da Universidade de São Paulo (USP/Ribeirão Preto), chefe da Unidade de Transplantes do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Amelia Ribeiro de Jesus

Médica, doutora em Imunologia pela Universidade Federal da Bahia (UFBA), professora adjunta da Universidade Federal de Sergipe (UFS), médica do Serviço de Imunologia do Hospital Universitário Prof. Edgard Santos (UFBA).

Ana Lúcia Brunialt Godard

Bióloga, doutora em Genética Humana pelo Université Pierre et Marie Curie, pós-doutora pelo Institut National de Recherches Agronomiques, França; chefe do Departamento de Biologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB/UFMG).

Ana Lúcia Coutinho Domingues

Médica, doutora em Medicina Tropical pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), professora adjunta do Departamento de Medicina Clínica da UFPE.

Ana Rabello

Médica, doutora em Medicina Tropical pela Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), pesquisadora titular e chefe do Laboratório de Pesquisas Clínicas do Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz).

Andréa Teixeira Carvalho

Farmacêutica-bioquímica, doutora em Bioquímica e Imunologia pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), pesquisadora assistente do Laboratório de Doença de Chagas do Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz).

Angela Silva

Médica, doutora em Doenças Infecciosas e Parasitárias pela Universidade Federal de São Paulo (USP), professora adjunta do Departamento de Doenças Infecciosas da Universidade Federal de Sergipe (UFS).

Arnon Dias Jurberg

Biólogo, mestrando em Biologia Celular e Molecular pelo Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), bolsista do Laboratório de Patologia do IOC/Fiocruz.

Cintia Aparecida de Jesus Pereira

Bióloga, doutoranda em Parasitologia pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), bolsista do Instituto de Ciências Biológicas do Departamento de Parasitologia da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB/UFMG).

Clarice Neuenschwander Lins de Morais

Biomédica, doutora em Saúde Pública pelo Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães (CPqAM/Fiocruz), tecnologista júnior do Departamento de Imunologia do CPqAM/Fiocruz.

Cláudia Lúcia Martins da Silva

Farmacêutica, doutora em Química Biológica pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), pós-doutora pela Universidade de São Paulo (USP) e professora adjunta do Departamento de Farmacologia Básica e Clínica da UFRJ.

Claudia Maria da Cunha Borges

Bióloga, doutora em Patologia Humana pela Universidade Federal da Bahia (UFBA), professora de Bioquímica e Exames Complementares do Centro Universitário de Salvador, bolsista do Laboratório de Patologia Experimental do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz (CPqGM/Fiocruz).

Constança Simões Barbosa

Bióloga, doutora em Saúde Pública pela Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca (Ensp/Fiocruz), pesquisadora titular, docente do Programa de Pós-Graduação e coordenadora do Serviço de Referência em Esquistossomose Mansoni do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães (CPqAM/Fiocruz).

Cristiano Lara Massara

Biólogo, doutor em Biologia Parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), pesquisador associado e vice-chefe do Laboratório de Helmintologia e Malacologia Médica do Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz).

Deborah A. Negrão-Corrêa

Bióloga, doutora em Imunologia de Doenças Parasitárias pela Cornell University, Estados Unidos, professora adjunta do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB/UFMG).

Delir Corrêa Gomes

Historiadora, doutora em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), pesquisadora titular, chefe do Departamento de Helmintologia do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz).

Edgar M. Carvalho

Médico, doutor em Medicina pela Universidade Federal da Bahia (UFBA), professor titular do Departamento de Medicina da UFBA e chefe do Serviço de Imunologia do Hospital Universitário Prof. Edgard Santos (UFBA).

Edmundo Machado Ferraz

Médico, professor titular do Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Cirurgia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), chefe do Serviço de Cirurgia Geral do Hospital das Clínicas da UFPE.

Eliana Nakano

Farmacêutica, doutora em Ciências Biológicas pelo Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (IB/USP), pesquisadora do Laboratório de Parasitologia do Instituto Butantan da Universidade de São Paulo (USP).

Eridan de Medeiros Coutinho

Médica, livre-docente e doutora em Patologia da Nutrição pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), professora titular da UFPE, pesquisadora-titular (aposentada) do Departamento de Imunologia, Laboratório de Imunopatologia do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães (CPqAM/Fiocruz).

Ester Maria Mota

Bióloga, doutora em Biologia Parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), pesquisadora associada do Laboratório de Patologia do IOC/Fiocruz.

Fábio Ribeiro

Biólogo, doutor em Parasitologia pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), pesquisador visitante do Laboratório de Esquistossomose do Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz).

Flavia Rachel Moreira Lamarão

Bióloga, doutoranda em Biologia Celular e Molecular pelo Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), técnica do Departamento de Micobacterioses, Laboratório de Hanseníase do IOC/Fiocruz.

Florence Mara Rosa

Bióloga, mestre em Parasitologia pelo Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB/UFMG), técnica de laboratório do Departamento de Parasitologia do ICB/UFMG.

François Noël

Farmacêutico, doutor em Ciências Farmacêuticas pela Université Catholique de Louvain, Bélgica, professor titular e chefe do Departamento de Farmacologia Básica e Clínica do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal do Rio de Janeiro (ICB/UFRJ).

Franklin David Rumjanek

Biólogo, doutor em Química Biológica pelo University College London Universidade de Londres, pós-doutor pelo National Institute for Medical Research, Inglaterra, professor titular e diretor do Instituto de Bioquímica Médica da Universidade Federal do Rio de Janeiro (IBqM/UFRJ).

Frederico G. C. Abath (*in memoriam*)

Médico, doutor em Biologia Molecular e Imunologia de Parasitas pelo National Institute for Medical Research, Inglaterra, pesquisador titular e chefe do Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular do Departamento de Imunologia do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães (CPqAA/Fiocruz).

Giovanni Gazzinelli

Médico, doutor em Medicina e em Bioquímica e Imunologia pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), pesquisador titular (colaborador) do Laboratório de Imunologia Celular e Molecular do Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz), professor titular do Núcleo do Programa de Pós-Graduação da Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte.

Gloria Regina Franco

Bióloga, doutora em Bioquímica e Imunologia pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), professora adjunta do Departamento de Bioquímica e Imunologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais (ICB/UFMG).

Guilherme Correa de Oliveira

Biólogo, doutor pela Texas A & M University, Estados Unidos, pesquisador titular e chefe do Laboratório de Parasitologia Celular e Molecular, vice-diretor de Pesquisa e Referência do Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz).

Hallan Souza e Silva

Físico, doutor em Física pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), bolsista do Departamento de Física da Universidade Federal de Viçosa (UFV/MG).

Henrique Leonel Lenzi (Organizador)

Médico, doutor em Patologia Geral pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), pós-doutor pela Faculdade de Medicina da Universidade de Harvard, Estados Unidos, pesquisador titular (aposentado) do Laboratório de Patologia do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz).

Horacio Manuel Santana Teles

Biólogo, doutor em Parasitologia pela Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), pesquisador científico do Laboratório de Malacologia da Superintendência de Controle de Endemias (Sucen).

Iramaya Rodrigues Caldas

Bióloga, doutora em Imunologia pelo Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), pesquisadora titular do Laboratório de Imunologia Celular e Molecular do Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz).

Izabela Voieta

Médica, mestre em Medicina Tropical pela Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), infectologista do Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC/UFMG).

Jane Arnt Lenzi

Médica, doutora em Patologia pela Universidade Federal da Bahia (UFBA), pesquisadora titular (aposentada) do Laboratório de Patologia do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz).

José Roberto Lambertucci

Médico, doutor em Medicina Tropical pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), pós-doutor pela London School of Tropical Medicine and Hygiene, Inglaterra, professor titular do Departamento de Clínica Médica, Serviço de Doenças Infecciosas e Parasitárias, Faculdade de Medicina da UFMG.

José Roberto Machado e Silva

Biomédico, doutor em Parasitologia Veterinária pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), professor adjunto do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (Uerj), subchefe do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia da Uerj.

José Rodrigues Coura

Médico, livre-docente pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), pós-doutor pela National Institutes of Health, Estados Unidos, pesquisador titular do Departamento de Medicina Tropical do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz).

Liana Konovaloff Jannotti-Passos

Bióloga, doutora em Biologia Celular e Molecular pelo Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), pesquisadora assistente e responsável pelo Moluscário Lobato Paraense do Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz).

Liz Cristina Watanabe

Bióloga, doutora em Biologia pelo Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (IB/USP).

Luciana Barros de Santana

Médica, mestre em Saúde pela Universidade Federal da Bahia (UFBA), infectologista do Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe (UFS), professora (voluntária) da UFS.

Luciana Cristina dos Santos Silva

Médica, doutora em Medicina Tropical pela Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), médica do Hospital das Clínicas da UFMG.

Luciano V. Dutra

Engenheiro eletrônico, doutor em Computação Aplicada pelo Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (Inpe), pós-doutor pela University of Sheffield, Inglaterra, pesquisador titular do Inpe.

Luciene Barbosa

Bióloga, doutora em Parasitologia pelo Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB/UFMG), pesquisadora (voluntária) do Laboratório de Cultivo Celular da Fundação Ezequiel Dias.

Luís André Pontes

Biólogo, doutor em Biologia Celular e Molecular pelo Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), pesquisador visitante do Laboratório de Esquistossomose do Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz).

Marcelo Pelajo Machado

Médico, doutor em Biologia Celular e Molecular pelo Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), pós-doutor pelo Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ), Alemanha, pesquisador associado e chefe do Laboratório de Patologia do IOC/Fiocruz.

Márcio A. Menezes Guerra

Engenheiro metalúrgico, funcionário da Companhia de Tecnologia da Informação do Estado de Minas Gerais (Prodemge).

Maria Cecília Pinto Diniz

Pedagoga, doutora em Ciências da Saúde pelo Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz), bolsista do Laboratório de Educação em Saúde do CPqRR/Fiocruz.

Martin Johannes Enk

Médico, doutor em Ciências da Saúde pelo Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz), bolsista do Laboratório de Educação em Saúde do CPqRR/Fiocruz.

Milton Ozório Moraes

Biólogo, doutor em Biologia Celular e Molecular pelo Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), pesquisador associado do Departamento de Bacterioses do IOC/Fiocruz, professor adjunto do Departamento de Biofísica da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (Uerj).

Mitermayer Galvão dos Reis

Médico, pesquisador titular do Laboratório de Patologia e Biologia Molecular e diretor do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz (CPqGM/Fiocruz), professor titular da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, professor associado do Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia (UFBA).

Monica Ammon Fernandez

Bióloga, mestre em Biologia Parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), pesquisadora adjunta do Laboratório de Malacologia do IOC/Fiocruz.

Mônica de Souza Panasco

Bióloga, doutora em Biologia Parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), técnica de laboratório de patologia do Laboratório de Imunohistoquímica e Citometria de fluxo do IOC/Fiocruz.

Naftale Katz

Médico, doutor em Ciências pelo Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz), pesquisador visitante e vice-chefe do Laboratório de Esquistossomose do CPqRR/Fiocruz, professor do Núcleo do Programa de Pós-Graduação da Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte.

Olindo Assis Martins Filho

Farmacêutico-bioquímico, doutor em Ciências pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), pesquisador adjunto e chefe do Laboratório de Biomarcadores de Diagnóstico e Monitoração do Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz).

Omar dos Santos Carvalho (Organizador)

Farmacêutico-bioquímico, mestre em Parasitologia pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), pesquisador titular e chefe do Laboratório de Malacologia e Helmintologia Médica, coordenador do Serviço de Referência em Esquistossomose (Exame e Identificação dos Moluscos do Gênero *Biomphalaria*), vice-diretor de Gestão e Desenvolvimento Institucional do Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz), coordenador do Programa Integrado de Esquistossomose da Fiocruz.

Otávio Sarmento Pieri

Biólogo, doutor em Filosofia pela School of Biological Sciences, University of Sussex, Inglaterra, pesquisador titular do Laboratório de Ecoepidemiologia e Controle da Esquistossomose e Geohelmintoses do Departamento de Biologia do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz).

Paulo Marcos Zech Coelho (Organizador)

Farmacêutico, doutor em Parasitologia pelo Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB/UFMG), pesquisador titular e chefe do Laboratório de Esquistossomose do Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz), coordenador do Serviço de Referência em Esquistossomose (Diagnóstico), professor do Núcleo do Programa de Pós-Graduação da Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte.

Raquel Lopes Martins-Souza

Bióloga, doutora em Parasitologia pelo Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB/UFMG), bolsista do Laboratório de Esquistossomose do Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz).

Renata Heisler Neves

Bióloga, doutora em Biologia Parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), pesquisadora visitante do Laboratório de Helmintos, Parasitos e Vertebrados do IOC/Fiocruz.

Rita Maria Zorzenon dos Santos

Física, pós-doutora pela Ecole Normale Superieure, França, professora adjunta do Departamento de Física da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Roberta Lima Caldeira

Bióloga, doutora em Ciências pelo Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), pesquisadora assistente do Laboratório de Helmintologia e Malacologia Médica do Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz).

Rodrigo Corrêa de Oliveira

Biólogo, doutor em Imunologia pela John Hopkins University, Estados Unidos, pesquisador titular e chefe do Laboratório de Imunologia Celular e Molecular, vice-diretor de Pesquisas e Referência do Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz).

Ronaldo S. Amaral

Médico-sanistarista, mestre em Medicina pela Escuela de Salud Publica de Mexico, México, gerente do Programa Nacional de Controle da Esquistossomose da Fundação Nacional de Saúde (Funasa).

Ronaldo G. Carvalho Scholte

Biólogo, doutorando em Biomedicina do Programa de Pós-Graduação da Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte, bolsista de doutorado do Laboratório de Helmintologia e Malacologia Médica do Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz).

Sandra Drummond

Farmacêutica, gerente regional do Programa de Controle da Esquistossomose em Minas Gerais, Superintendência de Epidemiologia, Diretoria de Vigilância Epidemiológica, Secretaria Estadual de Saúde do Estado de Minas Gerais (SES/MG).

Silvana Carvalho Thiengo

Bióloga, doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), pesquisadora titular do Departamento de Malacologia do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz).

Silvane Braga Santos

Farmacêutica-bioquímica, doutora em Imunologia pela Universidade Federal da Bahia (UFBA), pesquisadora do Serviço de Imunologia do Hospital Universitário Prof. Edgard Santos (UFBA), professora adjunta do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana (Uefs).

Silvia Maria Lucena Montenegro

Médica, doutora em Medicina pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), pesquisadora titular do Laboratório de Bioquímica e Biologia Celular do Departamento de Imunologia do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães (CPqAM/Fiocruz).

Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Médica, doutora em Gastroenterologia pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), professora adjunta do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da UFMG.

Tereza Cristina Favre

Bióloga, doutora em Biologia Parasitária pelo Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), pós-doutora em Medicina Tropical pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), pesquisadora titular e chefe do Laboratório de Ecoepidemiologia e Controle da Esquistossomose e Geohelmintoses do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz).

Toshie Kawano

Bióloga, doutora em Biologia do Desenvolvimento de Molusco pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), pós-doutora pelo Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (IB/USP), pesquisadora científica e diretora do Laboratório de Parasitologia do Instituto Butantan/USP.

Virgínia Torres Schall

Psicóloga, doutora em Educação pela Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-RJ), pesquisadora titular e chefe do Laboratório de Educação em Saúde do Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz).

Waldemiro de Souza Romanha

Biólogo, doutor em Biologia Celular e Molecular pelo Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), professor do curso de enfermagem da Universidade Veiga de Almeida (UVA-RJ).

Wladimir Lobato Paraense

Médico, especialista em Anatomia Patológica pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), pesquisador titular do Laboratório de Malacologia do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz).

Zilton de Araújo Andrade

Médico, doutor em Patologia pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP), pós-doutor pela Mount Sinai Hospital, Estados Unidos, pesquisador titular e chefe do Laboratório de Patologia Experimental do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz (CPqGM/Fiocruz).

SUMÁRIO

Prefácio 19

Apresentação 21

Parte I – O Parasito

1 – Histórico do *Schistosoma mansoni*
W. Lobato Paraense 29

2 – Filogenia, Co-Evolução, Aspectos Morfológicos e Biológicos das Diferentes Fases de Desenvolvimento do *Schistosoma mansoni*
José Roberto Machado e Silva, *Renata Heisler Neves* e *Delir Corrêa Gomes* 43

3 – Migração e Desenvolvimento de *Schistosoma mansoni* no Hospedeiro Definitivo
Henrique Leonel Lenzi, Arnon Dias Jurberg, Paulo Marcos Zech Coelho e *Jane Arnt Lenzi* 85

4 – Evolução do *Schistosoma mansoni* no Hospedeiro Intermediário
Paulo Marcos Zech Coelho, *Zilton de Araújo Andrade*, *Cláudia Maria da Cunha Borges*, *Fábio Ribeiro* e *Luciene Barbosa* 147

5 – Bioquímica do *Schistosoma mansoni*
Franklin David Rumjanek, *Iramaya Rodrigues Caldas* e *Giovanni Gazzinelli* 161

6 – Sistema Neuromuscular e Controle da Motilidade no Verme Adulto
François Noël 207

7 – Genômica e Biologia Molecular do *Schistosoma mansoni*
Guilherme Correa de Oliveira, *Frederico G. C. Abath* e *Gloria Regina Franco* 245

Parte II – Hospedeiros Intermediários

8 – Histórico do Gênero *Biomphalaria*, Morfologia e Sistemática Morfológica
W. Lobato Paraense 285

9 – Importância Epidemiológica e Biologia Molecular Aplicada ao Estudo dos Moluscos do Gênero *Biomphalaria*
Omar dos Santos Carvalho, *Liana Konovaloff Jannotti-Passos* e *Roberta Lima Caldeira* 309

10 – Estudo do Desenvolvimento Embrionário de *Biomphalaria glabrata* (Mollusca, Planorbidae) e suas Aplicações
Toshie Kawano, *Eliana Nakano* e *Liz Cristina Watanabe* 347

11 – Distribuição Espacial de *Biomphalaria glabrata*, *B. straminea* e *B. tenagophila*, Hospedeiros Intermediários do *Schistosoma mansoni* no Brasil
Omar dos Santos Carvalho, *Ronaldo S. Amaral*, *Luciano V. Dutra*, *Ronaldo G. Carvalho Scholte* e *Márcio A. Menezes Guerra* 393

12 – Diapausa em *Biomphalaria glabrata*
Otávio Sarmento Pieri e *Tereza Cristina Favre* 419

13 – Moluscos Límnicos em Reservatórios de Usinas Hidrelétricas no Brasil: aspectos biológicos e epidemiológicos
Silvana Carvalho Thiengo e *Monica Ammon Fernandez* 435

14 – Implicações da Biologia de *Biomphalaria* no Controle da Esquistossomose
Horacio Manuel Santana Teles e *Omar dos Santos Carvalho* 459

15 – *Biomphalaria* e *Schistosoma mansoni*: papel do sistema interno de defesa do molusco na susceptibilidade ao parasito
Deborah A. Negrão-Corrêa, *Paulo Marcos Zech Coelho*, *Zilton de Araújo Andrade*, *Raquel Lopes Martins-Souza* e *Cintia Aparecida de Jesus Pereira* 485

16 – Aspectos Genéticos da Interação *Biomphalaria-Schistosoma mansoni*
Florence Mara Rosa, *Paulo Marcos Zech Coelho*, *Deborah A. Negrão-Corrêa* e *Ana Lúcia Brunialt Godard* 511

17 – Técnicas Utilizadas no Estudo dos Moluscos do Gênero *Biomphalaria* e na Manutenção do Ciclo de *Schistosoma mansoni*
Liana K. Jannotti-Passos, *Roberta Lima Caldeira* e *Omar dos Santos Carvalho* 529

Parte III – Esquistossomose

18 – A Patologia da Esquistossomose Humana
Zilton de Araújo Andrade 547

19 – Patologia Experimental com Enfoque no Granuloma Esquistossomótico
Henrique Leonel Lenzi, Waldemiro de Souza Romanha, *Marcelo Pelajo Machado*, *Ester Maria Mota* e *Jane Arnt Lenzi* 569

20 – Patologia da Esquistossomíase na Má-Nutrição: uma visão abrangente
Eridan de Medeiros Coutinho 655

21 – A Resposta Imune na Forma Aguda da Esquistossomose Mansoni
Angela Silva, Luciana Barros de Santana e *Amelia Ribeiro de Jesus* 687

22 – A Resposta Imune na Forma Crônica da Esquistossomose Mansoni
Andréa Teixeira Carvalho, *Olindo Assis Martins Filho* e *Rodrigo Corrêa de Oliveira* 701

23 – A Resposta Imune no Contexto das Co-Infecções Associadas à Esquistossomose
Edgar M. Carvalho, *Silvane Braga Santos* e *Amelia Robeiro de Jesus* 717

24 – Imunologia e Imunopatologia: imunidade humoral
Teresa Cristina de Abreu Ferrari e *Rodrigo Corrêa de Oliveira* 731

25 – Fases e Formas Clínicas da Esquistossomose Mansoni
Aluízio R. Prata e *José Rodrigues Coura* 739

26 – Esquistossomose e Doenças Associadas
José Roberto Lambertucci, *Luciana Cristina dos Santos Silva* e *Izabela Voieta* 789

27 – Neuroesquistossomose
Teresa Cristina de Abreu Ferrari, *Sandra Drummond* e *Mitermayer Galvão dos Reis* 807

Parte IV – Tratamento

28 – Terapêutica Experimental da Esquistossomose Mansoni
Naftale Katz 823

29 – Terapêutica Clínica na Esquistossomose Mansoni
Naftale Katz 849

30 – Tratamento Cirúrgico da Esquistossomose Mansoni
Álvaro Antônio Bandeira Ferraz e *Edmundo Machado Ferraz* 871

Parte V – Diagnóstico

31 – Diagnóstico Parasitológico, Imunológico e Molecular da Esquistossomose Mansoni
Ana Rabello, *Luís André Pontes*, *Martin Johannes Enk*, *Silvia Maria Lucena Montenegro* e *Clarice N. Lins de Morais* 895

32 – Diagnóstico por Imagem
Ana Lúcia Coutinho Domingues 927

Parte VI – Epidemiologia e Controle

33 – Epidemiologia e Controle da Esquistossomose Mansoni
Constança Simões Barbosa, *Tereza Cristina Favre*, *Ronaldo S. Amaral* e *Otávio Sarmento Pieri* 965

34 – Desenvolvimento de Vacinas para Esquistossomose Mansoni: estado atual e perspectivas
Frederico G. C. Abath e *Naftale Katz* 1009

35 – Educação em Saúde no Controle da Esquistossomose
Virgínia Torres Schall, *Cristiano Lara Massara* e *Maria Cecília Pinto Diniz* 1029

Anexo 1081

Glossário 1085

Índice 1105

PREFÁCIO

Comemorando o centenário da brilhante contribuição do cientista baiano Pirajá da Silva, que em 1908 fez a completa descrição de *Schistosoma mansoni*, um grupo de pesquisadores brasileiros lança esta que é a mais completa obra sobre esquistossomose já publicada no Brasil: Schistosoma mansoni *e Esquistossomose: uma visão multidisciplinar*. Certamente é fruto de uma necessidade e de um sonho!

Necessidade, porque continua tendo enorme importância epidemiológica: estima-se que a doença ainda esteja presente em mais de cinqüenta países, totalizando cerca de duzentos milhões de casos no mundo. Endêmica em várias regiões tropicais e subtropicais da Terra, calcula-se que ainda seja responsável por mais de duzentas mil mortes por ano, além do enorme sofrimento que traz, pela sua cronicidade. No Brasil, a transmissão ainda ocorre em 19 estados e constitui uma de nossas mais importantes endemias: apesar de todo o esforço do sistema de saúde, estima-se que ainda tenhamos cerca de cinco milhões de casos.

Sonho, por reunir o esforço de pesquisadores e professores brasileiros das mais diversas áreas e especialidades e de entregar à sociedade uma obra definitiva sobre esquistossomose. Sonho alcançado! Foram 78 profissionais trabalhando em conjunto, nos últimos anos, para produzir este livro-marco sobre aquela endemia no Brasil.

Desde que Pirajá da Silva realizou suas primeiras observações sobre a esquistossomose, quando pioneiramente (1904) estudou no Brasil os ovos do parasito eliminados por um doente em Salvador, e descobriu e fez completa descrição de *Schistosoma mansoni* (1908), inúmeros cientistas brasileiros envolveram-se com o tema, produzindo uma das mais brilhantes contribuições nacionais a uma doença. Este livro é, portanto, parte não só de uma notável tradição da ciência nacional, mas também da ciência desenvolvida na Fiocruz pelos 43 pesquisadores pertencentes aos quadros da Instituição.

A publicação trata da esquistossomose como se requer: esquadrinhando em detalhes o parasito, seus hospedeiros intermediários, a patologia e a clínica, o diagnóstico e o tratamento, a epidemiologia e o controle. Não irei fazer referência aos conteúdos de cada um dos 35 capítulos. Além de não ter tamanha capacidade de síntese, tampouco sou um especialista no tema. Mas, afirmo aos pacientes leitores que me acompanharam até aqui, que é verdadeiramente impressionante a erudição técnica demonstrada pelos autores, o agrado que produz a leitura – o texto foi escrito em bom português – e a extraordinária atualização do conteúdo, expressada na vasta e atual bibliografia utilizada. A esta altura, devo parabenizar entusiasticamente os organizadores e autores pelo fôlego e extrema qualidade que conferiram ao livro.

Portanto, estamos diante de uma grande obra, que vem enriquecer a ciência brasileira e ajudar a tantos cientistas, clínicos, epidemiologistas e sanitaristas que dão o melhor de si, todos os dias, para ajudar seus patrícios a superar as doenças do subdesenvolvimento, decorrentes das iniqüidades sociossanitárias em que ainda estamos submergidos.

Este livro é um marco definitivo. Produto de anos de acúmulo de conhecimentos institucionais e pessoais, também aponta questões que deverão figurar no cenário futuro dos estudos sobre esquistossomose no Brasil. Ganham os leitores de suas páginas e, certamente, também a sociedade brasileira.

Paulo Marchiori Buss
Presidente da Fiocruz e membro titular da Academia Nacional de Medicina

APRESENTAÇÃO

É com satisfação que apresentamos à comunidade científica o livro intitulado Schistosoma mansoni *e Esquistossomose: uma visão multidisciplinar*. Em decorrência da qualidade dos autores convidados, esta obra constitui uma das mais importantes publicações relacionadas ao tema. Compreende uma extensa revisão sobre o assunto, abrangendo praticamente todas as áreas do conhecimento sobre a doença. Com isso, se dá continuidade ao estudo dessa específica parasitose no país, iniciado com as observações do notável pesquisador baiano Pirajá da Silva, em 1908.

Participaram da elaboração do livro 78 especialistas de diversas áreas e disciplinas do campo da saúde. Destes, 43 pertencem aos quadros da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). Esta publicação constitui a 11ª. elaborada pelo Programa Integrado de Esquistossomose da Fundação Oswaldo Cruz (Pide/Fiocruz), e começou a ser idealizada durante o primeiro semestre de 2003. O passo inicial para sua concepção deu-se durante o 9.º Simpósio Internacional sobre Esquistossomose, ocorrido em Salvador naquele mesmo ano. Após várias reuniões e trocas de idéias, definiram-se os temas dos capítulos e a estrutura geral, primando-se por uma obra estruturalmente homogênea, de alta qualidade, moderna e agradável de ser lida.

Os autores convidados aceitaram prontamente o convite, ainda que sabedores do enorme esforço que teriam pela frente para a elaboração de seus respectivos capítulos. Esta atitude refletiu a confiança depositada nos organizadores e a certeza da essencialidade da obra, que tem o propósito de atender a uma demanda da comunidade científica brasileira, integrada por estudantes, agentes dos serviços de saúde, pesquisadores e professores ligados ao assunto, ante a ausência de publicação similar atualizada. Por sua importância, pertinência e colaboração de especialistas brasileiros com alto conceito científico no país e no exterior, espera-se que se consolide definitivamente como uma das obras mais relevantes sobre a esquistossomose mansoni já publicada. Abrangendo conhecimentos que variam desde os mais básicos aos de extrema complexidade, contempla o parasito, os hospedeiros intermediários e definitivos e as interações entre eles, tudo isto inserido no contexto ambiental e social do qual a esquistossomose mansoni faz parte.

Sobre as muitas imagens que compõem a coletânea, ricamente ilustrada, optou-se por publicar o crédito apenas daquelas cuja autoria não seja de algum autor de capítulo do livro. A ausência de registro de crédito de algumas imagens indica que estas são de autoria ou responsabilidade de algum dos autores do texto em que se inserem.

O livro traz ainda um anexo, de muita relevância, contendo a reprodução da primeira descrição do *Schistosoma mansoni* no Brasil, feita pelo pesquisador Pirajá da Silva em 1908 e publicada, à época, pelo periódico *Brazil-Medico*.

Com o intuito de se ter uma visão panorâmica do conteúdo do livro, optou-se por comentar especificamente cada parte, obedecendo-se a seqüência estabelecida na publicação.

Parte I – O Parasito.

O primeiro capítulo (Histórico do *Schistosoma mansoni*) traça a evolução do conhecimento sobre a parasitose e seu agente etiológico, especulando sobre a origem do gênero *Schistosoma*, ou de seus

precursores. Registra, cronologicamente, as contribuições mais significativas, com seus respectivos autores que elucidaram os principais aspectos ligados ao parasito, seus hospedeiros vertebrados e invertebrados e ao seu complexo ciclo evolutivo.

No segundo capítulo (Filogenia, Co-Evolução, Aspectos Morfológicos e Biológicos das Diferentes Fases de Desenvolvimento do *Schistosoma mansoni*), descreve-se, por meio de várias ferramentas metodológicas, sobretudo morfológicas, vários aspectos do desenvolvimento das formas evolutivas, estabelecendo relações sobre filogenia, posição taxonômica e evolução do parasito.

O terceiro capítulo (Migração e Desenvolvimento do *Schistosoma mansoni* no Hospedeiro Definitivo) descreve a dinâmica e a complexidade das transformações e vias migratórias do *S. mansoni* em hospedeiros definitivos, a partir da penetração das cercárias pela pele ou mucosas.

O capítulo 4 (Evolução do *Schistosoma mansoni* no Hospedeiro Intermediário) versa sobre a evolução do *S. mansoni* em caramujos do gênero *Biomphalaria*, destacando que ainda restam muitos desafios para se determinar os mecanismos que regem a evolução do parasito no molusco.

O capítulo 5 (Bioquímica do *Schistosoma mansoni*) aborda aspectos do metabolismo geral do parasito, sua estrutura molecular e respectivas funções biológicas e aspectos bioquímicos relacionados à reprodução do trematódeo.

O capítulo 6 (Sistema Neuromuscular e Controle da Motilidade no Verme Adulto) destaca o sistema neuromuscular do parasito, visando estabelecer estratégias para triagem de drogas esquistossomicidas. Este assunto não tem sido abordado, tradicionalmente, nos livros sobre esquistossomose.

O capítulo 7 (Genômica e Biologia Molecular do *Schistosoma mansoni*) expõe um tema atual de grande relevância em parasitologia e com grande potencial para elucidar vários aspectos relacionados à interação parasito-hospedeiro e ao desvendamento de alvos potenciais para o desenvolvimento de novos fármacos esquistossomicidas.

A parte II da obra versa sobre diversos aspectos dos Hospedeiros Intermediários.

O capítulo 8 (Histórico do Gênero *Biomphalaria*, Morfologia e Sistemática Morfológica) foi escrito pelo autor responsável pela definição da sistemática moderna para classificar planorbídeos, com base na morfologia, que pôs ordem em uma situação caótica existente antes de seus trabalhos.

O capítulo 9 (Importância Epidemiológica e Biologia Molecular Aplicada ao Estudo dos Moluscos do Gênero *Biomphalaria*) expõe uma visão epidemiológica das três espécies com importância na transmissão da doença. São apresentadas também técnicas moleculares, que complementam a metodologia de identificação de espécies, antes restrita a características morfológicas das partes moles.

O capítulo 10 (Estudo do Desenvolvimento Embrionário de *Biomphalaria glabrata* – Mollusca, Planorbidae – e suas aplicações) descreve a biologia do desenvolvimento do referido molusco, mostrando aspectos de importância crescente para várias disciplinas, como biologia molecular, fisiologia, biologia celular e estudos evolucionários.

O capítulo 11 (Distribuição Espacial de *Biomphalaria glabrata*, *B. straminea* e *B. tenagophila*, Hospedeiros Intermediários do *Schistosoma mansoni* no Brasil) apresenta um panorama do potencial de transmissão das três espécies de *Biomphalaria* com importância epidemiológica, e uma atualização de sua distribuição geográfica por recursos de geoprocessamento.

O capítulo 12 (Diapausa em *Biomphalaria glabrata*) discorre sobre o fenômeno de dormência de *B. glabrata*, chamado de diapausa. São discutidos os mecanismos ligados a alterações ambientais, seus reflexos biológicos no processo de diapausa e as implicações epidemiológicas ligadas a esse fenômeno.

O capítulo 13 (Moluscos Límnicos em Reservatórios de Usinas Hidrelétricas no Brasil: aspectos biológicos e epidemiológicos) analisa, tendo os planorbídeos como atores, as conseqüências das alterações ambientais decorrentes de mudanças ecológicas ocorridas, notadamente nos últimos sessenta anos, em diversas bacias hidrográficas do país, objetivando a produção de energia hidrelétrica. São discutidos aspectos dos planorbídeos relevantes para a saúde pública e sua atuação como indicadores de alterações do meio ambiental aquático.

O capítulo 14 (Implicações da Biologia de *Biomphalaria* no Controle da Esquistossomose) tece considerações sobre a bioecologia das espécies com importância na transmissão da doença no Brasil, a saber, *B. glabrata*, *B. straminea* e *B. tenagophila*. São feitas inferências entre as condições ambientais com a biologia e o comportamento das espécies consideradas. O enfoque principal tem como meta discutir os métodos mais adequados para o controle dos moluscos transmissores da esquistossomose.

O capítulo 15 (*Biomphalaria* e *Schistosoma mansoni*: papel do sistema interno de defesa do molusco na susceptibilidade ao parasito) versa sobre os mecanismos ligados ao sistema interno de defesa de *Biomphalaria,* responsáveis pela resistência à infecção pelo *S. mansoni*. É destacada a surpreendente e notável complexidade do sistema inato de defesa desses organismos invertebrados.

O capítulo 16 (Aspectos Genéticos da Interação *Biomphalaria-Schistosoma mansoni*) aborda os aspectos genéticos ligados à susceptibilidade e à resistência de *Biomphalaria* frente ao *S. mansoni*. A *Biomphalaria tenagophila* da linhagem Taim tem se mostrado sistematicamente resistente à infecção por linhagens geográficas diferentes de *S. mansoni*. O caráter de dominância da resistência está possibilitando testar a introdução dessa linhagem em áreas onde a transmissão se processa pela mesma espécie, objetivando a introdução do patrimônio genético da resistência, sobretudo por intercruzamentos.

O capítulo 17 (Técnicas Utilizadas no Estudo dos Moluscos do Gênero *Biomphalaria* e na Manutenção do Ciclo do *Schistosoma mansoni*) apresenta os procedimentos adequados para exame de exemplares de *Biomphalaria* provenientes do campo, métodos de laboratórios para criação de moluscos e para a manutenção do ciclo do *S. mansoni*.

A parte III – Esquistossomose – tem seu início pelo capítulo 18 (A Patologia da Esquistossomose Humana), que apresenta o estado atual da doença no cenário brasileiro, focalizando aspectos fisiopatológicos, correlações clínico-patológicas e as principais alterações patológicas que ocorrem em diversos órgãos na infecção esquistossomótica humana.

O capítulo 19 (Patologia Experimental com Enfoque no Granuloma Esquistossomótico) analisa criticamente os vários modelos experimentais empregados no estudo da esquistossomose, a patologia da doença em vários órgãos e em diversos animais de experimentação, com destaque para a complexidade da reação inflamatória granulomatosa periovular.

O capítulo 20 (Patologia da Esquistossomíase na Má-Nutrição: uma visão abrangente) discorre sobre as implicações de uma dieta insuficiente na evolução da imunopatologia da esquistossomose experimental. Deve-se considerar que a má-nutrição (desnutrição) e doenças parasitárias caminham de mãos dadas em diversos países do terceiro mundo.

O capítulo 21 (A Resposta Imune na Forma Aguda da Esquistossomose Mansoni) trata das peculiaridades imunológicas da fase aguda da esquistossomose em pacientes, atualizando os conceitos sobre essa importante fase da doença.

O capítulo 22 (A Resposta Imune na Forma Crônica da Esquistossomose Mansoni) apresenta uma revisão crítica do estado atual do conhecimento sobre a resposta imunitária na infecção esquistossomótica humana. São salientados tanto a importância de imunocomplexos na patogenia da doença quanto o impacto de outras patologias associadas, alterando a resposta específica contra o *S. mansoni*.

O capítulo 23 (A Resposta Imune no Contexto das Co-Infecções Associadas à Esquistossomose) expõe uma série de informações e conclusões, respondendo à preocupação, manifestada pelos autores do capítulo 21, sobre a necessidade de estudos sobre a resposta imunológica da esquistossomose associada a outras co-infecções.

O capítulo 24 (Imunologia e Imunopatologia: imunidade humoral) discute o papel da imunidade humoral na determinação das formas clínicas da esquistossomose e nos mecanismos ligados a resistência e infecção. O grupo tem extensa e importante contribuição para o tema e aborda o assunto de maneira objetiva e sucinta.

O capítulo 25 (Fases e Formas Clínicas da Esquistossomose Mansoni) revisa as formas clínicas da doença, tendo como base a larga experiência clínica adquirida em inúmeros trabalhos realizados em diversas comunidades da área endêmica de esquistossomose no Brasil.

O capítulo 26 (Esquistossomose e Doenças Associadas) trata, com abordagem mais clínica, do problema da esquistossomose associada a outras infecções, tais como co-infecções bacterianas por gram-negativos e virais (hepatites B e C) e HIV.

O capítulo 27 (Neuroesquistossomose) apresenta o quadro da neuroesquistossomose, destacando a mielorradiculopatia como forma grave e peculiar da manifestação da doença, em virtude principalmente de uma singularidade anatômica da vasculatura visceral dos pacientes. O quadro clínico pode apresentar seqüelas graves, caso o tratamento precoce não seja efetuado. Os autores chamam a atenção para a importância crescente da neuroesquistossomose e para a necessidade de uma divulgação maior da síndrome no meio clínico.

Na parte IV – Tratamento –, o capítulo 28 (Terapêutica Experimental da Esquistossomose Mansoni) trata da descoberta e validação de drogas desenvolvidas para o tratamento da esquistossomose.

O capítulo 29 (Terapêutica Clínica na Esquistossomose Mansoni) apresenta uma revisão histórica e atual do desenvolvimento de drogas esquistossomicidas em uso clínico, analisando, de forma crítica, os desafios atuais neste tema.

O capítulo 30 (Tratamento Cirúrgico da Esquistossomose Mansoni) relata a situação anterior aos tratamentos quimioterápicos governamentais, que exibia um número expressivo de cirurgias em casos de esquistossomose hepatoesplênica, contrapondo-se à atual situação, que, apesar de ainda apresentar casos clínicos que necessitam de intervenção cirúrgica, teve uma acentuada redução de indicações para esse fim. Os autores descrevem as diversas abordagens cirúrgicas utilizadas nos casos de esquistossomose.

Parte V – Diagnóstico.

O capítulo 31 (Diagnóstico Parasitológico, Imunológico e Molecular da Esquistossomose Mansoni) faz uma atualização crítica sobre os métodos diagnósticos atualmente empregados e apresenta novos métodos com potencial de desenvolvimento para o diagnóstico clínico e epidemiológico da esquistossomose. É ressaltado que ainda não existe um método ideal que adicione alta sensibilidade e especificidade a baixo custo operacional.

O capítulo 32 (Diagnóstico por Imagem) descreve as limitações e vantagens do método de ultra-sonografia para diagnóstico das lesões causadas pela esquistossomose. O advento da ultra-sonografia contribuiu de maneira decisiva para o aperfeiçoamento do diagnóstico da morbidade na esquistossomose e, hoje em dia, é essencial para trabalhos epidemiológicos que têm como objetivo estudar, com mais precisão, as formas clínicas em áreas endêmicas.

Na parte VI – Epidemiologia e Controle –, o capítulo 33 (Epidemiologia e Controle da Esquistossomose Mansoni) apresenta uma visão geral da esquistossomose, dentro de um contexto biológico, ambiental e social, com interesse para os serviços de saúde governamentais. São apontados os desafios e sugestões para o controle da doença.

O capítulo 34 (Desenvolvimento de Vacinas para Esquistossomose Mansoni: estado atual e perspectivas) apresenta uma análise crítica sobre os diversos antígenos candidatos à vacina. São também abordados, criticamente, aspectos sobre a viabilidade e a real necessidade de uma vacina para o controle da doença. Um dos autores deste capítulo, Frederico G. C. Abath, não mais se encontra entre nós; a ele nossa especial homenagem.

O capítulo 35 (Educação em Saúde no Controle da Esquistossomose) expõe vários métodos de educação para a saúde vinculados ao controle da esquistossomose. Como a doença aflige principalmente a população mais necessitada e, conseqüentemente, com maiores deficiências no entendimento de como as doenças são adquiridas e evitadas, torna-se imperativo que novos métodos educacionais sejam desenvolvidos como importante ferramenta auxiliar para o controle da esquistossomose, utilizando-se o sistema educacional existente.

Somos imensamente gratos ao esforço e ao empenho de todos os excelentes profissionais que participaram deste empreendimento, ao apoio recebido da presidência da Fiocruz e à dedicação e competência dos funcionários da Editora Fiocruz.

Os Organizadores

PARTE I

O Parasito

1 Histórico do *Schistosoma mansoni*

W. Lobato Paraense

Cientistas que contribuíram significativamente para o conhecimento da esquistossomose, do agente etiológico e seu ciclo evolutivo:
1– Arthur Looss;
2 – Manoel Augusto Pirajá da Silva;
3 – Patrick Manson;
4 – Robert Thomson Leiper;
5- Theodor Bilharz;
6 – Adolpho Lutz.

Este capítulo descreve a evolução do conhecimento sobre a esquistossomose e seu agente etiológico, iniciando-se com especulações sobre a origem do gênero *Schistosoma* ou de seus precursores. Na literatura científica buscou-se um registro cronológico das principais contribuições, com seus respectivos autores, que elucidaram os aspectos primordiais ligados ao parasito, seus hospedeiros vertebrados e invertebrados e ao seu complexo ciclo evolutivo

HISTÓRICO DO *Schistosoma mansoni*

A origem do *Schistosoma mansoni* é assunto controverso. Segundo Davis (1980, 1992), o gênero *Schistosoma* e os moluscos a ele relacionados evoluíram na Gondwana antes da desintegração da Pangéia e chegaram à Ásia pela placa Indiana dentro dos últimos 50 milhões de anos. Nessas condições, os ancestrais do helminto e dos moluscos transmissores já conviveriam nos territórios que hoje constituem a América do Sul e a África.

A origem gonduânica é contestada por vários autores, entre os quais Snyder & Locker (2000) e Morgan et al. (2001), argumentando que, se assim fosse, as espécies africanas de *Schistosoma*, como representantes da linhagem gonduânica original, deveriam estar entre os membros basais do ramo (clado) mamífero, o que não é confirmado pelas análises atuais. No entanto, estudos de filogenética molecular, entre os quais os dos referidos autores, sugerem que o gênero *Schistosoma* originou-se na Ásia e que um descendente colonizou a África, onde passou por extensa radiação, tornando-se parasito exclusivo de moluscos planorbídeos. Depois recolonizou a Ásia e diversificou em grupos de espécies com ovos de espículo terminal e lateral, figurando entre as últimas o *S. mansoni*. Segundo eles, qualquer cronologia nesse sentido é altamente especulativa. Na realidade, uma definição da origem do gênero *Schistosoma* depende do estudo de maior número de táxons e da análise de novas seqüências (Zhang et al., 2001).

Investigando a filogenia molecular em sete espécies de esquistossomos, Desprès et al. (1992) sugerem que eram parasitos de roedores e ruminantes na África até há 1-10 milhões de anos, quando os primeiros hominídeos invadiram as áreas de savana, ambientes favoráveis para transmissão de parasitos.

Atualmente concordam os autores em que o *S. mansoni* foi introduzido da África para o hemisfério ocidental em época relativamente recente, durante o tráfico de escravos (p. ex., Files 1951; Desprès et al., 1993).

Quanto aos moluscos transmissores, investigações de sistemática molecular (Campbell et al., 2000; DeJong et al., 2001) têm indicado a origem americana do gênero *Biomphalaria*, a partir de um ancestral '*glabrata*-like' que produziu as doze espécies africanas há cerca de cinco milhões de anos, ou mais recentemente, há 1.1-1.8 milhões. Esta última estimativa é corroborada pela datação dos mais antigos fósseis do gênero em 1-2 milhões de anos. A análise filogenética de 23 espécies de *Biomphalaria* (16 neotropicais e sete africanas) também sugere a origem americana desse gênero (DeJong et al., 2001).

A conexão entre esquistossomose e o Egito vem desde o início do registro histórico, incluindo autores como Homero, Hipócrates e Heródoto. Este último referiu-se ao Egito como a terra onde os homens menstruavam, devido à hematúria ocorrente na esquistossomose hematóbia. A mesma referência aparece em escritos de historiadores do Egito medieval, principalmente árabes. Tal sintoma, conhecido no Egito como doença âaâ, está mencionado nos papiros de Ebers, Berlim, Hearst e Londres, escritos há cerca de 3.500 anos. Várias autoridades, entretanto, divergem sobre a interpretação de âaâ, e mesmo se era uma doença parasitária (nota 6 em Adamson, 1976).

O caso mais antigo de esquistossomose humana de que se tem notícia foi identificado por imunodiagnose (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay – Elisa*) na múmia de um adolescente egípcio, infectado pelo *S. haematobium*, que viveu há mais de cinco mil anos (Deelder et al., 1990). Ovos da mesma espécie foram encontrados por Ruffer (1910a, 1910b), patologista inglês professor de bacteriologia na Cairo Medical School e criador do termo 'paleopatologia', nos rins de duas múmias egípcias da 20ª

dinastia (cerca de três mil anos). Também foram encontrados ovos de *S. japonicum* em múmias chinesas de cerca de 2.100 anos (Zhou et al., 1994).

A interpretação das referências a hematúria em papiros médicos, de Ebers e de Kahun entre outros, como sintoma de infecção pelo *S. haematobium*, tem sido desacreditada recentemente (Nunn, 1996; Nunn & Tapp, 2000; Westendorf, 1992). Nunn & Tapp (2000) estranham que os antigos egípcios, com seu enorme vocabulário, não possuíssem uma palavra para nomear o que certamente foi uma de suas doenças mais comuns.

As primeiras observações sobre o agente etiológico da esquistossomose foram feitas em 1851, no Egito, pelo patologista alemão Theodor Bilharz. Nascido em 1825, Bilharz foi estudante de von Siebold, a quem devia seu interesse pela parasitologia. Diplomado em 1849 pela Universidade de Freiburg, foi nomeado seu professor de história natural. Deixou esse posto em 1850 para acompanhar Wilhelm Griesinger ao Egito, como seu assistente na Escola Médica do Cairo, onde foi chefe de clínica, professor assistente de cirurgia, professor de clínica médica, de anatomia descritiva e finalmente de sífilis e dermatologia.

Necropsiando um jovem, encontrou na veia porta um helminto. Participou seu achado em várias cartas a seu mestre von Siebold, que o comunicou como uma "descoberta surpreendente" a um congresso de naturalistas em Gotha, em nome de Bilharz (von Siebold, 1852). Realmente, até então era desconhecida a existência de um trematódeo sanguícola.

Na primeira carta (1º. de maio de 1851), faz a descrição de um helminto branco e longo encontrado em grande número no sangue da veia porta, "que a olho nu pareceu-me um nematódeo, mas logo reconheci como algo novo. Uma olhada ao microscópio permitiu distinguir um magnífico *Distomum*, com o corpo achatado e a cauda encurvada cerca de dez vezes mais longa que o corpo".

Na carta seguinte (28 de agosto), anuncia o encontro da fêmea (até então, todos os trematódeos conhecidos eram hermafroditas):

> Ainda não lhe comuniquei as novas fases nas quais entrou meu helminto da veia porta. Não aconteceu, como eu supunha, um conto de fada, mas eu gostaria de dizer uma coisa mais maravilhosa, um trematódeo de sexos separados. Aquele helminto que descrevi na minha última carta era o macho. Quando pesquisei com mais cuidado, dispondo o mesentério íntegro contra a luz e examinando as veias do intestino, logo achei exemplares que abrigavam um fio cinzento na calha de sua cauda. O senhor pode avaliar minha surpresa quando vi aparecer na parte dianteira da canaleta um trematódeo que se movia para lá e para cá e, semelhante na forma aos primeiros, era somente mais fino e mais delicado, e em vez da cauda em calha tinha a parte posterior filiforme, inteiramente inclusa no semicanal em forma de calha da parte posterior do corpo do macho, como uma espada na bainha. Foi fácil retirar a fêmea do canal do macho e reconhecê-la claramente por sua estrutura interna. Os ovos têm uma forma ovalada e são bem pontudos em uma extremidade, a ponta sempre dirigida para trás dentro do útero ou do oviduto.

Na terceira carta (1º. de dezembro), considerando como bocas as duas ventosas, e por habitar o sangue, dá ao parasito o nome de *Distomum haematobium*; acrescenta detalhes descritivos, refere-se à goteira caudal do macho pela denominação de *canalis gynaekophorus*, e apresenta a diagnose da nova espécie. Bilharz considerava como bocas as duas ventosas, daí a denominação *Distomum* (duas bocas). Após alguns anos, Weinland e Cobbold verificaram que somente uma ventosa continha uma cavidade oral e, então, Weinland (1858) sugeriu *Schistosoma* (corpo fendido no macho).

Em sua descrição do *Distomum haematobium*, Bilharz (1852) referiu-se a ovos com espículo lateral ao lado de ovos com espículo terminal, não só nos tecidos humanos (fígado, intestino) como no útero de uma mesma fêmea. Neste último caso havia um ovo com espículo lateral, "sem dúvida alguma na parte anterior do útero, cuja parte posterior continha os ovos comuns", com espículo terminal. Assim descreve os ovos com espículo lateral: "Apareciam como corpos amarelo-acastanhados, compridos, truncados nas duas extremidades. Em um dos lados, mais próximo à extremidade mais truncada, havia um prolongamento cônico, inclinado em direção à extremidade mais pontuda". Um ovo com espículo lateral é representado por Bilharz (1853) na Fig. J da Estampa XVII. Depois de descrever os tais ovos com espículo lateral, para ele enigmáticos, indaga: "Serão uma segunda forma de ovos ou uma espécie de envoltório pupal, formado pelo animal depois de sair do ovo?". E após discutir essas duas suposições conclui: "Reconheço não ser possível interpretar com segurança, à luz dos fatos presentes, o significado das cápsulas mencionadas; para mim, porém, a hipótese mais verossímil é que se trate de um envoltório, com o qual se recobre o frágil embrião proveniente do verdadeiro ovo do *Distomum haematobium*, para assim abandonar o corpo humano".

Após três anos, Bilharz (1856) volta ao assunto:

> Por mais estranho que pareça, os ovos aparecem em duas formas diferentes. A forma comum é oval, diminuindo um pouco para os pólos e com uma extremidade finamente pontuda. A segunda, mais rara, é aproximadamente do mesmo tamanho, oval, embotada em ambas as extremidades, com uma protuberância cônica em um lado dirigida para a extremidade mais romba. Ambas as formas têm sido encontradas dentro do oviduto da fêmea, tanto quanto nos tecidos de diversos órgãos abdominais humanos.

Nesta comunicação, como seu título indica, Bilharz ocupou-se quase exclusivamente das alterações no sistema urinário.

Em 1862, Bilharz acompanhou o duque de Saxe-Coburg-Gotha em uma expedição de caçada à Somália, tendo ficado em Mossawa com a duquesa para dar atenção médica a uma dama afetada por febre tifóide, que o contaminou, levando-o à morte em 9 de maio, aos 37 anos de idade, poucos dias após retornar ao Cairo. Segundo uma versão (Vandenberg 1975), ele contraiu uma febre misteriosa depois de visitar sepulturas no Vale dos Reis.

Cobbold, em 1859, dissecando um macaco *Cercopithecus fuliginosus*, encontrou no sangue extravasado da veia porta um único exemplar macho de um trematódeo que considerou diferente do *Distomum haematobium* de Bilharz, denominando-o *Bilharzia magna*. Este nome genérico, conforme a lei de prioridade, não prevaleceu sobre *Schistosoma* (corpo fendido), proposta em 1858 por Weinland.

A presença concomitante de ovos com espículo terminal e lateral, mencionada por Bilharz (1852), não foi confirmada por outros observadores. Harley (1864), em casos de hematúria endêmica na África do Sul, encontrou somente ovos com espículo terminal, denominando o parasito local *Distomum capense* e considerando-o diferente da outra espécie, produtora de dois tipos de ovos.

Na edição de 1900 de seu *Tropical Diseases* (páginas 541-542) Manson descreve o ovo da *Bilharzia haematobia* como "provido de um espículo curto, robusto e muito definido. Em certos casos, a serem adiante mencionados, o espículo não é terminal, mas colocado lateralmente". À página 547 do mesmo periódico: "Estranho que pareça, em ovos encontrados no intestino, de acordo com Sonsino e Mackie, o espículo é geralmente lateral, enquanto que naqueles das paredes da bexiga o espículo é invariavelmente terminal". Entre as sugestões para essa posição, considera mais provável que seja devida à compressão

exercida pela camada muscular do intestino sobre o helminto enquanto os ovos estão passando pelas glândulas da concha.

Em 1902, Manson refere-se a um paciente inglês que tinha residido por 15 anos em várias ilhas do Caribe. Em St. Kitts banhava-se em água de fonte pública da montanha, "às vezes muito insatisfatória", passando através de uma aldeia e usada por toda gente. Em duas ou três ocasiões sentiu no banho um prurido, chamado localmente "coceira de vaca". O exame microscópico revelou: "Fezes, ovos de bilharzia não numerosos; distribuídos por toda a massa fecal; com espículo lateral. Urina, sem ovos nem células do sangue". No ano seguinte, Manson (1903) escreveu: "Possivelmente há duas espécies de Bilharzia, uma com ovos de espículo lateral depositando-os somente no reto, a outra infestando indiferentemente o reto e a bexiga". Posteriormente (Manson, 1905), distingue com maior precisão o hábitat das duas espécies hipotéticas:

> Pode ser que nessa diferença de posição do espículo nas bilharzioses vesical e retal tenhamos a indicação de uma diferença de espécies; que haja uma espécie de Bilharzia afetando especialmente a bexiga e produzindo ovos com espículo terminal, e outra espécie que afeta especialmente o reto e produz somente ovos de espículo lateral.

Em março de 1907, perante a Zoological Society de Londres, propôs Sambon a criação de uma nova espécie parasita do homem, que denominou *Schistosomum mansoni*:

> No Estado Livre do Congo, em outras partes da África e nas Índias Ocidentais, existe uma forma de Bilharziose, clínica e patologicamente semelhante à forma asiática produzida pelo *Schistosomum japonicum* diferente da forma clássica da África Oriental devida ao *S. haematobium*. Os ovos da espécie que produz esta forma peculiar nunca são encontrados na urina, mas parecem ser eliminados somente pelo intestino. Diferem dos do *S. haematobium* por terem um largo espículo lateral, completamente diferente, em tamanho, forma e posição, do espículo pequeno, reto, terminal, que caracteriza os ovos do *S. haematobium*. Até agora, os ovos com espículo lateral, comumente observados no Egito em casos de infecção mixta, têm sido considerados como tendo sofrido deformação ao passarem através da mucosa retal. Sir Patrick Manson, há alguns anos, sugeriu que os ovos de espículo lateral encontrados nas fezes dos pacientes, e nunca na urina, poderiam representar uma nova espécie. A ele é dedicada a nova espécie, em apreço a uma de suas muitas intuições geniais.

Os primeiros autores a investigar a evolução do *Schistosoma* supunham que, como outros trematódeos, devia passar por uma metamorfose em um hospedeiro intermediário, possivelmente molusco, antes de serem capazes de infectar outra pessoa. Harley (1864), adotando as conclusões de Siebold sobre a evolução dos trematódeos, admitia que o miracídio devia penetrar em certos moluscos, transformando-se em sacos de cercárias, que depois produziriam os vermes adultos. Segundo Cobbold (1864), as formas larvais deveriam ser encontradas em moluscos gastrópodos próprios às localidades onde existissem os vermes adultos.

Em 1894, entretanto, Looss formulou a hipótese de que a parasitose seria comunicável diretamente de homem a homem. Em conseqüência, devido a sua grande autoridade em helmintologia, praticamente toda a pesquisa sobre transmissão na África, durante cerca de vinte anos subseqüentes, foi dirigida à verificação experimental dessa hipótese. Mesmo sabendo que o *Schistosoma* é um trematódeo e que vários trematódeos tinham moluscos como hospedeiros intermediários, nem ele nem outros pesquisadores (os franceses Lortet e Vialleton e o italiano Sonsino) enviados por seus países ao Egito conseguiram identificar o molusco. Looss, então, sugeriu que o miracídio era a forma infectante para o homem, realizando o desenvolvimento

intermediário no fígado. Manteve essa opinião até 1914, quando a deflagração da guerra mundial forçou os alemães a deixar o Egito, onde Looss havia trabalhado por mais de vinte anos.

A hipótese de Looss foi definitivamente contrariada por Miyairi & Suzuki (1914) ao demonstrarem a infecção de um molusco aquático, "provavelmente da família Hydrobiidae", pelo miracídio do *S. japonicum*.

Na China, foram encontrados ovos de *Schistosoma japonicum* no fígado e no reto de um cadáver bem conservado de mulher com cerca de 2100 a.C. (Liu, 1978). Segundo uma antiga lenda, a esquistossomose japônica originou-se quando um navio naufragou, derramando laca próximo a Katayama, passando os habitantes locais, tanto quanto os animais, a sofrer irritação cutânea ao entrarem em contato com a água, donde o nome 'doença de Katayama', reconhecida depois em outras partes do Japão. A descrição original da doença foi publicada por Fujii em 1847 e republicada em 1909.

Em 1882, convocado por Fujii, reuniu-se um grupo para estudar a doença de Katayama, considerando as possibilidades de fasciolose, ancilostomose e malária. Um novo ovo de parasito foi encontrado nas fezes e no fígado de pacientes, semelhantes aos de um trematódeo de gatos.

Em abril de 1904 o pesquisador japonês F. Katsurada, examinando as fezes de 12 pacientes da província de Yamanashi, encontrou em cinco deles um ovo semelhante ao do *Schistosoma haematobium*. Como tinha previamente verificado que certos trematódeos parasitos do homem, como *Paragonimus westermanni*, são freqüentemente encontrados em cães e gatos, julgou que algum outro trematódeo causador de doença humana podia ser encontrado nesses animais. Necropsiou dois cães e um gato, encontrando neste uma parte de um trematódeo macho. Recebeu depois um segundo gato de Yamanashi, portador de numerosos trematódeos idênticos ao anterior. Publicou essa informação em agosto de 1904, denominando o parasito *Schistosomum japonicum*.

Cabe a Leiper o mérito de ter realizado um trabalho global, abrangendo todos os aspectos do problema sob investigação. Em meados de 1914 esteve no Japão e depois na China, juntamente com Atkinson, repetindo e confirmando as experiências dos pesquisadores japoneses. No Japão encontraram Fujinami, coletaram moluscos em Katayama e mostraram que uma espécie em particular, ainda não descrita e denominada *Katayama nosophora* (atual *Oncomelania nosophora*) por Robson (1915), mostrava notável atração para os miracídios de *S. japonicum*. Os esporocistos encontrados em seu hepatopâncreas continham cercárias sem faringe que evoluíram para esquistossomos adultos em camundongos (Leiper & Atkinson, 1915).

A eclosão da primeira guerra mundial, em agosto de 1914, forçou a volta de Leiper para a Inglaterra e também a de Looss, do Egito para a Alemanha. Ao fim da viagem os animais de Leiper haviam morrido, restando poucos moluscos eliminando cercárias que serviram para infectar um último camundongo sobrevivente, dando vermes machos e fêmeas.

Confirmado o ciclo vital do *S. japonicum*, Leiper foi enviado pelo War Office ao Egito, por indicação de Manson, para "investigar a doença bilharziana, recomendar medidas preventivas em relação às tropas" etc. Instalou-se em uma área de alta endemicidade nos arredores do Cairo, ocupando um laboratório da Escola de Medicina e passando a coletar todos os moluscos de água doce da região. Identificou 15 espécies de sete gêneros, inclusive quatro *Bulinus* (*contortus*, *innesi*, *dybowski* e *alexandrinus*) e dois *Planorbis* (*boissyi* e *mareoticus*). Começou investigando as diferenças entre as cercárias de trematódeos 'humanos' e 'não humanos' encontradas nos moluscos coletados. Tendo em vista que, ao contrário da maioria dos dístomos, os esquistossomos não têm faringe muscular, decidiu verificar se o mesmo ocorria nas cercárias. Já se sabia, então, que na descrição da cercária do *S. japonicum* por Miyagawa (1912) não

havia referência à presença ou ausência de faringe. Selecionou para estudo quatro formas desprovidas de faringe. Uma delas foi considerada parasita de ave; com a outra não foi possível infectar animais. As duas restantes foram inoculadas em camundongos, ratos, cobaias e macacos. Uma, que era eliminada pelo *Planorbis boissyi* (= *Biomphalaria alexandrina*), produzia adultos machos com sete a nove testículos e fêmeas com um ou dois ovos de espículo lateral no útero (*S. mansoni*). A outra, que se formava em *Bulinus contortus* (= *B. truncatus*), dava adultos machos com quatro a cinco testículos, e fêmeas com numerosos ovos de espículo terminal (*S. haematobium*). Nenhuma destas cercárias fora vista por Sonsino (1892) ou por Looss (1896), que haviam estudado com grande afinco as formas larvais dos trematódeos do Egito. Em seguida, Leiper infectou as referidas espécies de moluscos com os respectivos esquistossomos.

Em conseqüência dos trabalhos de Leiper ficava colocada acima de qualquer dúvida a concepção dualista.

Além das investigações referidas, estudou o desenvolvimento larval do *Schistosoma* no hospedeiro intermediário, vários aspectos da bionomia das cercárias, a penetração destas e seu desenvolvimento até o estádio adulto no hospedeiro definitivo, além de determinar tentativamente os caracteres morfológicos diferenciais dos adultos, machos e fêmeos, das duas espécies – *S. haematobium* e *S. mansoni*; esclareceu, ainda, as condições epidemiológicas e sugeriu medidas profiláticas em relação à esquistossomose (Leiper 1915a, 1915b, 1915c, 1916, 1918).

A história da esquistossomose no Brasil pode ser iniciada com referência a uma carta de Griesinger, enviada de Berlim em 1866 a Otto Wucherer, sugerindo-lhe verificar se as urinas de pacientes com hematúria continham ovos de *Schistosoma haematobium*. Vale lembrar que Griesinger acompanhou Bilharz em necropsias no Egito, quando encontraram *Distomum haematobium* na bexiga urinária de um jovem (Siebold 1852, carta de Bilharz de 16 de março). Quanto a Wucherer, nascido em Portugal, de ascendência germânica, médico pela Universidade de Tübingen, transferiu-se em 1843 para a Bahia. Ele não encontrou ovos de *Schistosoma*, mas teve a surpresa (Wucherer 1868) de achar microfilárias em vários pacientes com hematúria e quilúria, fazendo jus às denominações *Filaria wuchereri* Silva Lima, 1877 e *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877).

Em abril de 1908 Pirajá da Silva, examinando o sangue fresco de um adolescente nativo de Salvador, Bahia, encontrou "hematozoários em forma de crescente e um ovo muito semelhante ao de *Schistosoma mansoni*". Brevemente refere o então escasso conhecimento do ciclo do parasito: "ovos expelidos do organismo humano caem na água e um miracídio é libertado; o hospedeiro intermediário ainda é desconhecido, assim como as migrações e transformações do trematódeo não são conhecidas". Ovos do *Schistosoma* também foram vistos nas fezes (depois, observou mais dois casos).

Compulsando a literatura sobre doenças tropicais, não encontrou informação sobre esquistossomose 'nesta parte do Brasil', apenas pouca menção deste país na distribuição geográfica da verminose. Diz concordar com Manson e Sambon, "que os ovos com espinho lateral indicam uma terceira espécie de *Schistosomum* que justamente confirma a classificação de Sambon do *Schistosoma mansoni*". Além do parasito adulto, reconheceu o estádio larval que denominou Cercaria Blanchardi (Pirajá da Silva, 1912b).

As observações de Pirajá da Silva foram refutadas por Looss (1911), para quem a realidade do *S. mansoni* encontraria uma base sólida quando alguém achasse, dentro de uma veia da parede do reto, fêmeas alojadas no canal ginecóforo de machos e possuindo no útero exclusivamente ovos de espículo lateral, no mesmo número (80 a 150) encontrados, em circunstâncias idênticas, em fêmeas portadoras de ovos de espículo terminal. Argumentou então que Pirajá encontrou apenas um ovo, e que na figura onde ele diz estar um casal

de esquistossomos em cópula numa veia do reto aparecem realmente dois cortes de uma única fêmea, e também que a outra figura mostra não um corte do útero contendo um ovo de espículo lateral, mas sim um corte do intestino do verme contendo uma concreção. Tal interpretação foi contestada por Pirajá (1912b).

Os estudos de Pirajá da Silva constituíram uma das contribuições mais importantes para a demonstração da especificidade do *S. mansoni*. Talvez por lhe faltar material africano desta espécie para estudos comparativos, exprimiu certa dúvida quanto à identidade entre as formas africana e americana, chegando mesmo a sugerir para esta última um novo nome, *S. americanum*. Entretanto, em todos os seus trabalhos sempre se referiu pelo nome *S. mansoni* ao parasito que estudava.

Independentemente dos pesquisadores japoneses e de Leiper, cujos trabalhos só veio a conhecer quando já estavam adiantadas suas investigações e já havia reproduzido todo o ciclo vital do parasito, iniciou Lutz, em 1916, uma série de estudos sobre a esquistossomose no Brasil. Os resultados de tais estudos foram publicados em várias notas preliminares (Lutz 1916, 1917a, 1917b) e depois reunidas em monografia (Lutz, 1919). Além disso, realizou observações em regiões endêmicas do nordeste do país (Lutz & Penna, 1918) e estudou quase todas as espécies de planorbídeos brasileiros.

Todos os resultados a que chegou Leiper no Egito foram confirmados por Lutz em relação à esquistossomose mansoni, no Brasil. Estudou com bastante detalhe o ovo e o miracídio. Observou a penetração deste último em vários moluscos de água doce e o seu desenvolvimento através dos estádios de esporocistos, até a formação das cercárias de cauda bifurcada. Reconheceu como hospedeiros intermediários a *Biomphalaria glabrata* (então denominada *Planorbis olivaceus* e *P. guadaloupensis*) e a *B. straminea* (então *P. centimetralis*), assinalando as lesões principais neles produzidas pelo parasito. Descreveu a cercária, que identificou à Cercaria blanchardi descrita por Pirajá da Silva (1912b), observando as condições de sua libertação do corpo do molusco e sua penetração em animais de experiência. Confirmou a caracterização dos vermes adultos feita por Pirajá da Silva e por Leiper. E ocupou-se, finalmente, da infecção humana e experimental sob os aspectos sintomatológico, patogênico, anatomopatológico, terapêutico e profilático. Na monografia sobre os planorbídeos brasileiros (Lutz, 1918), que constitui obra clássica, estão descritas e perfeitamente ilustradas quase todas as espécies existentes no país, inclusive algumas por ele denominadas.

Ao mesmo tempo em que Lutz estudava a esquistossomose mansoni no Brasil, Iturbe & González (1916) obtinham, na Venezuela, a infecção experimental do *Planorbis guadaloupensis* (= *Biomphalaria glabrata*). Seguiram o desenvolvimento completo do parasito no molusco, infectaram animais com as cercárias e obtiveram os vermes adultos no sistema porta. Encontraram o mesmo planorbídeo altamente infectado em condições naturais, demonstrando assim seu papel de hospedeiro intermediário naquele país. Observações adicionais sobre a epidemiologia e a profilaxia da esquistossomose e a morfologia da cercária foram também publicadas por Iturbe (1917a, 1917b).

REFERÊNCIAS

ADAMSON, P. B. Schistosomiasis in antiquity. *Medical History*, 20: 176-188, 1976.

BILHARZ, T. M. Fernere Beobachtungen über das die Pfortader des Menschen bewohnend *Distomum haematobium* und seinVerhältniss zu gewissen pathologischen Bildungen aus brieflichen Mitheilungen an Professor v. Siebold vom 29. *Zeitschrift für wissenchaftlich Zoologie*, 4: 72-76, 1852.

BILHARZ, T. Fernere Mittheilungen über Distomum Haematobium. *Zeitschrift für wissenchaftlich Zoologie*, 4: 454-456, 1853.

BILHARZ, T. Distomum haematobium, und sein Verhältness zu gewissen pathologischen Verhänderungen der menschlichen Harnorgane. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 6: 49-52, 65-68, 1856.

CAMPBELL, G. et al. Molecular evidence supports an African affinity of the Neotropical freshwater gastropod, *Biomphalaria glabrata*, Say 1818, an intermediate host for *Schistosoma mansoni*. *Proceedings of the Royal Society of London*, 267: 2.351-2.358, 2000.

COBBOLD, T. S. On some new forms of Entozoa. *Transactions of the Linnean Society of London*, 22: 363-366, 1859.

COBBOLD, T. S. Remarks on Dr. Harley's paper "Haematuria of the Cape of Good Hope". *Lancet*, i: 156-157, 1864.

DAVIS, G. M. Snail hosts of Asian *Schistosoma* infecting man: evolution and coevolution. In: BRUCE, J. I. & SORNMANI, S. The Mekong Schistosome. *Malacological Review*, supl. 2: 195-238, 1980.

DAVIS, G. M. Evolution of prosobranch snails transmitting Asian *Schistosoma*; coevolution with *Schistosoma*: a review. *Progress in Clinical Parasitology*, 3: 145-204, 1992.

DEELDER, A. M. et al. Detection of schistosome antigen in Mummies. *Lancet*, 335: 724-725, 1990.

DEJONG, R. J. et al. Evolutionary relationships and biogeography of Biomphalaria (Gastropoda: Planorbidae) with implications regarding its role as host of the human blood fluke, *Schistosoma mansoni*. *Molecular Biology and Evolution*, 18: 2.225- 2.239, 2001.

DESPRÈS, L.; IMBERT-ESTABLET, D. & MONNEROT, M. Molecular characterization of mitochondrial DNA provides evidence for the recent introduction of *Schistosoma mansoni* into America. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 60: 221-229, 1993.

DESPRÈS, L. et al. Molecular evidence linking hominid evolution to recent radiation of schistosomes (Platyhelminthes: Trematoda). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1: 295-304, 1992.

FILES, V. S. A study of the vector-parasite relationships in *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 41: 264-269, 1951.

FUJII, D. An account of a journey to Katayama. *Chugai Iji Shimpo*, 691: 55-56. Em japonês, tradução inglesa em Kean et al. (1978) Tropical Medicine and Parasitology, Classic Investigations. v. II. Cornell Univ. Press: Ithaca, 1847 (republicado em 1909).

HARLEY, J. On the endemic hematuria of the Cape of Good Hope. *Medical and Chirurgical Transactions*, 47: 55-72, 1864.

ITURBE, J. Distribución y profilaxia de la Bilharzia mansoni en Caracas. *Gaceta Médica de Caracas*, 24: 70, 1917a.

ITURBE, J. Anatomía de la cercaria del *Schistosomum mansoni*. *Gaceta Médica de Caracas*, 24: 81, 1917b.

ITURBE, J. & GONZÁLEZ, E. El *Huéspede Intermediário del* Schistosomum mansoni *em Venezuela*. Edição Especial. Caracas: Academia Nacional de Medicina, 1916.

KATSURADA, F. *Schistosomum japonicum*, ein neuer menschlicher Parasit, durch welchen eine endemische Krankheit in verschiedenen Gegenden Japans verursacht wird. *Annotationes Zoologicae Japonenses*, 5: 146-160, 1904.

LEIPER, R. T. Report on the results of the Bilharzia Mission in Egypt, 1915. Part I. Transmission. *Journal of the Royal Army Medical Corps*, 25: 1-55, 1915a.

LEIPER, R. T. Report on the results of the Bilharzia Mission in Egypt, 1915. Part II. Prevention and eradication. *Journal of the Royal Army Medical Corps*, 25: 147-192, 1915b.

LEIPER, R. T. Report on the results of the Bilharzia Mission in Egypt, 1915. Part III. Development. *Journal of the Royal Army Medical Corps*, 25: 253-267, 1915c.

LEIPER, R. T. Report on the results of the Bilharzia Mission in Egypt. Part IV. Egyptian mollusca. *Journal of the Royal Army Medical Corps*, 27: 171-190, 1916.

LEIPER, R. T. Report on the results of the Bilharzia Mission in Egypt. Part V. Adults and ova. *Journal of the Royal Army Medical Corps*, 30: 235-260, 1918.

LEIPER, R. T. & ATKINSON, E. L. Observations on the spread of Asiatic schistosomiasis. *British Medical Journal*, i: 201-203, 1915.

LIU, Y. (Ed.) *The Han Tombs of Mawangdui Changsha*. House, China: Human People's Publishing, 1978.

LOOSS, A. Bemerkungen zur Lebengeschichte der Blharzia haematobia im Anschlusse an G. Sandison Brock's Arbeit über denselben Gegenstand. *Zentralblatt für Bakteriologie*, 16: 286-292, 340-346, 1894.

LOOSS, A. Recherches sor la faune parasitaire de l'Égypte: première partie. *Mémoires de l' Institut d' Égypt*, 3: 1-252, 1896.

LOOSS, A. Some notes on the Egyptian *Schistosoma haematobium* and allied forms. *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 14: 177-182, 1911.

LUTZ, A. Observações sobre a evolução do *Schistosomum mansoni*. Nota prévia. *Brazil-Medico*, 30: 385-387, 1916.

LUTZ, A. Observações sobre a evolução do *Schistosomum mansoni*. Segunda nota prévia. *Brazil-Medico*, 31: 81-82, 89-90, 1917a.

LUTZ, A. Observações sobre a evolução do *Schistosomum mansoni*. *Revista da Sociedade Brasileira de Ciências*, 1: 41-48, 1917b.

LUTZ, A. Caramujos de água doce do gênero *Planorbis*, observados no Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 10: 65-82, 1918.

LUTZ, A. O *Schistosomum mansoni* e a schistosomatose segundo observações, feitas no Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 11: 121-155, 1919.

LUTZ, A. & PENNA, O. Estudos sôbre a schistosomatose, feitos no Norte do Brazil, por uma comissão do Instituto Oswaldo Cruz. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 10: 83-94, 1918.

MANSON, P. *Tropical Diseases*. London: Cassell & Co, 1900.

MANSON, P. Report of a case of bilharzia from the West Indies. *The Journal of Tropical Medicine*, 5: 384-385, 1902.

MANSON, P. *Tropical Diseases: a manual of the diseases of warm climates*. 3. ed. London: Cassell & Co, 1903.

MANSON, P. Bilharziosis; Filariasis. In: MANSON, P. *Lectures on Tropical Diseases*. London: Archibald Constable & Co, 1905.

MIYAIRI, K. & SUZUKI, M. Der Zwischenwirt des *Schistosomum japonicum* Katsurada. *Mitteilungen der Medizine Fakultät, Kaiser Universität Kyushu*, 1: 187-198, 1914.

MIYAGAWA, Y. On the route of migration of *Schistosoma japonicum* from the skin to the portal system and the structure of the youngest worms at the time of skin penetration. *Zentralblatt für Bakteriologie*, 66: 406-417, 1912.

MORGAN, J. A. T. et al. *Schistosoma mansoni* and *Biomphalaria*: past history and future trends. *Parasitology*, 123: S211-S228, 2001.

NUNN, J. F. *Ancient Egyptian Medicine*. London: British Museum Press, 1996.

NUNN, J. F. & TAPP, E. Tropical diseases in ancient Egypt. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 94: 147-153, 2000.

PIRAJÁ DA SILVA, M. Contribuição para o estudo da schistosomiase na Bahia. *Brazil-Medico*, 22: 281-283, 1908a.

PIRAJÁ DA SILVA, M. Contribuição para o estudo da schistosomíase na Bahia. Dezesseis observações. *Brazil-Medico*, 22: 441-444, 1908b.

PIRAJÁ DA SILVA, M. La schistosomose à Bahia. *Archives de Parasitologie*, 13: 83-302, 1909.

PIRAJÁ DA SILVA, M. Über einige Helminthen aus Bahia. *Archiv für Schiffs und Tropen Hygiene*, 16: 485-487, 1912a.

PIRAJÁ DA SILVA, M. Cercaire brésilienne (Cercaria blanchardi) à queue bifurquée. *Archives de Parasitologie*, 15: 398-400, 1912b.

ROBSON, G. C. Note on 'Katayama nosophora'. *British Medical Journal*, 2.822 (1): 203, 1915.

RUFFER, M. A. Note on the presence of 'Bilharzia haematobia' in Egyptian mummies of the twentieth dynasty (1250-1000 B.C.). *British Medical Journal*, l: 16, 1910a.

RUFFER, M. A. Remarks on the histology and pathological anatomy of Egyptian mummies. *Cairo Scientific Journal*, 4: 3-7, 1910b.

SAMBON, L. W. Descriptions of some new species of animal parasites. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 19: 282-283, 1907.

SIEBOLD, C. T. Ein Beitrag zur Helminthographia humana, aus brieflichen Mittheilungen des Dr. Bilharz in Cairo, nebst Bemerkungen von Prof. C. Th. v. Siebold in Breslau. *Zeitschrift für wissenschaftlich Zoologie*, 4: 53- 76, 1852.

SNYDER, S. D. & LOKER, E. S. Evolutionary relationships among the Schistosomatidae (Platyhelminthes: Digenea) and an Asian origin for *Schistosoma*. *The Journal of Parasitology*, 86: 283-288, 2000.

SONSINO, P. Studi sui parassiti di molluschi di acqua dolce nei dintorni di Cairo in Egitto. *Festschr 70 Geburt R Leuckarts*, 134-146. Wilhelm Engelmann, Leipzig. 1892.

VANDENBERG, P. Suicide for the advancement of science. In: VANDENBERG, P. *The Curse of the Pharaohs*. London: Book Club Assoc, 1975.

WEINLAND, D. F. *Human Cestoides: an essay on the tapeworms of man etc., to which is added an appendix, containing a catalogue of all species of helminthes hitherto found in man*. Cambridge: Metcalf & Co, 1858.

WESTENDORF, W. *Erwachen der Heilkunst: die medizin in Alten Ägypten*. Zürich: Artemis & Winkler, 1992.

WUCHERER, O. Noticia preliminar sobre vermes de uma espécie ainda não descripta, encontrados na urina de doentes de hematuria intertropical no Brazil. *Gazeta Médica da Bahia*, 3: 97-99, 1868.

ZHANG, G. et al. Afrique ou Asie, quelle est l'origine évolutive des schistosomes humains? *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, Series III, 324: 1.001-1.010, 2001.

ZHOU, D.; LI, Y. & YANG, X. Schistosomiasis control in China. *World Health Forum*, 15: 387-389, 1994.

2 Filogenia, Co-Evolução, Aspectos Morfológicos e Biológicos das Diferentes Fases de Desenvolvimento do *Schistosoma mansoni*

José Roberto Machado e Silva
Renata Heisler Neves
Delir Corrêa Gomes

Vermes adultos acasalados de *Schistosoma mansoni*, corados por carmim clorídrico.

Os trematódeos digenéicos são endoparasitos de vertebrados, com corpo achatado dorsoventralmente, de simetria bilateral, sem segmentação, tendo o tegumento coberto por uma citomembrana de aspecto sincicial. São acelomados, com o espaço entre os órgãos preenchido por células parenquimatosas e tecido conectivo. Os órgãos de fixação são constituídos por duas ventosas: a mais anterior, oral, onde se encontra a abertura bucal; e a ventral ou acetábulo. O sistema digestivo termina em um fundo cego, isto é, sem ânus. O aparelho excretor é protonefridial, com células vibráteis, terminando em um poro excretor posterior. São hermafroditas, com exceção das famílias Schistosomatidae (Looss, 1899) Poche, 1907 e Didymozoidae (Monticelli, 1888) Poche, 1907, que são dióicos.

As características morfológicas das formas evolutivas de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, como os demais helmintos, apresentam valor taxonômico para caracterização e identificação. O conhecimento topográfico dos órgãos é de extrema utilidade nos diferentes experimentos, principalmente quando se necessita identificar o local onde ocorrem as transformações, reações etc., além de se saber quais as funções específicas dessas estruturas em cada fase evolutiva. Essas características, juntamente com a filogenia e a relação com os diversos hospedeiros e o ambiente, têm sido abordadas em trabalhos mais recentes, para complementar e atualizar os dados existentes, que vinham sendo passados há algumas décadas, aceitando-se o que existia.

S. mansoni se diferencia dos demais trematódeos hermafroditas, por apresentar um dimorfismo sexual acentuado, apesar de ter evoluído de um ancestral hermafrodita (Basch, 1990). De acordo com Combes (1990), primeiramente o helminto se adaptou a roedores, mais tarde foi transferido para hominídeos e enfim chegou à forma encontrada nos atuais hospedeiros. Ao contrário, outros consideram que, primeiro, a adaptação ocorreu em hominídeos e depois nos roedores (Locker et al., 2003). Admitindo-se que a hipótese da associação entre as condições fisiológicas do hospedeiro natural e a expressão fenotípica do helminto têm uma correlação estreita, a necessidade do conhecimento de todas as estruturas, nas diferentes formas evolutivas, é importante como informação básica e fundamental para o conhecimento da esquistossomose, complementando e auxiliando outras áreas de pesquisa.

Neste capítulo a filogenia, a posição taxonômica e a morfologia das formas evolutivas são apresentadas, a partir de observações em microscopia de campo claro, contraste de interferência diferencial, microscopia eletrônica de varredura, microscopia eletrônica de transmissão, microscopia de varredura laser confocal e nos aspectos biológicos do desenvolvimento das diferentes fases evolutivas.

POSIÇÃO TAXONÔMICA

Na classificação dos helmintos (Gibson, Jones & Bray, 2002; Olson et al., 2003), o gênero *Schistosoma* se encontra assim localizado:

- Filo Plathyhelminthes (Gegenbauer, 1859)
- Classe Trematoda Rudolphi, 1808
- Subclasse Digenea Carus, 1863
- Ordem Strigeiforme La Rue, 1926
- Superfamília Schistosomatoidea Stiles & Hassal, 1898
- Família Schistosomatidae Stiles & Hassal, 1898
- Gênero *Schistosoma* Weiland, 1858

Família Schistosomatidae

A família Schistosomatidae é representada por trematódeos parasitos, que em sua fase adulta vivem no sistema venoso de mamíferos, alguns répteis (crocodilos) e aves. Algumas análises filogenéticas sugerem que a família tenha se originado em animais pecilotérmicos, aves e depois mamíferos (Morand & Muller-Graf, 2000). Os autores de tais análises consideram que, nessa família, a presença do canal ginecóforo é um caráter plesiomórfico, com várias reduções durante a diversificação da família. O pequeno número de testículos é um estágio plesiomórfico, tendo ocorrido a variação numérica por diversas vezes (Morand & Muller-Graf, 2000). Estudo recente sugere que o gênero *Orientobilharzia* Dutt & Srivatava, 1955 deve ser incluído no gênero *Schistosoma*, apesar de apresentar um número muito maior de lóbulos testiculares (Locker et al., 2003). Devido à diversidade nessa família, esse caráter não foi considerado adequado para a análise filogenética (Morand & Muller-Graf, 2000).

As fases larvares das espécies do gênero *Schistosoma* Weinland, 1858 ocorrem em moluscos gastrópodes aquáticos, principalmente dos gêneros *Biomphalaria*, *Bulinus* ou *Oncomelania*. Os representantes desta família se diferenciam de outros trematódeos por apresentarem sexos separados, eliminarem ovos não operculados, com espinho lateral ou terminal, embrionados (com miracídio) e ter como formas infectantes para o hospedeiro vertebrado (definitivo) as cercárias que penetram por via transcutânea. Em geral, nos trematódeos digenéicos que causam infecção humana, a forma infectante é a metacercária, transmitida por via oral.

Levando-se em consideração as características morfológicas dos vermes adultos, do espinho do ovo, do ciclo biológico, da especificidade pelo hospedeiro e genéticas (padrão de isoenzimas e DNA), as espécies do gênero *Schistosoma* podem ser divididas em quatro grupos (Comité OMS, 1993; Bont & Vercruysse, 1998):

- Grupo japonicum (*S. japonicum* Katsurada, 1904, *S. sinensium* Pao, 1959; *S. mekongi* Voge, Bruckner & Bruce, 1978, *S. malayensis* Greer et al, 1988);
- Grupo haematobium (*S. haematobium* (Bilharz, 1852) Weinland, 1858, *S. bovis* (Sonsino, 1876) Blanchard, 1895, *S. mattheei* Veglia & Le Roux, 1929, *S. margrebowiei* Le Roux, 1933, *S. intercalatum* Fisher, 1934, *S. leiperi* Le Roux, 1955);

- Grupo indicum (*S. indicum* Montgomery, 1906, *S. spindale* Montgomery, 1906, *S. incognitum* Chandler, 1926, *S. nasale* Rao, 1933);
- Grupo mansoni (*S. mansoni* Sambon, 1907, *S. rodhaini* Brumpt, 1931; *S. hippopotami* Thurston, 1963, *S. edwardiense* Thurston, 1964).

A ausência de fósseis dificulta estabelecer a origem do gênero *Schistosoma* (Morgan et al., 2001). A filogenia desse gênero foi estudada com base nas características morfológicas, associações entre hospedeiros, biogeografia e análise molecular, resultando em duas teorias (Locker et al., 2003; Morand & Muller-Graf, 2000; Morgan et al., 2001; Barker & Blair, 1996; Platt & Brooks, 1997; Snyder & Loker, 2000). Uma propõe que essa origem tenha sido no Gondwana, com a participação de moluscos pulmonados e pomacídeos. A partir dessa região, o ancestral na Ásia deu origem aos grupos *japonicum* e *indicum* e, na África, *haematobium* e *mansoni* (Morgan et al., 2001). Na outra, a Ásia é o centro irradiador de *Schistosoma* (Combes, 1990). Os dados moleculares favorecem a teoria da origem asiática (Locker et al., 2003; Morand & Muller-Graf, 2000; Morgan et al., 2001; Snyder & Loker, 2000). O ancestral asiático parasito de molusco pulmonado se deslocou para a África (12-19 mil anos), por conta da migração dos mamíferos. A permanência desse ancestral na Ásia deu origem ao grupo *japonicum* e, na África, aos grupos *mansoni* e *haematobium* (1 mil a 4 mil anos). Posteriormente, o ancestral retornou à Ásia com os hominídeos e seus animais domésticos (Barker & Blair, 1996).

De acordo com Combes (1990), *S. mansoni* primeiramente se adaptou a roedores, mais tarde foi transferido lateralmente para hominídeos e chegou à forma encontrada nos atuais hospedeiros. Ao contrário, outros consideram que, primeiro, a adaptação ocorreu em hominídeos e depois nos roedores (Locker et al., 2003).

As espécies do grupo *mansoni*, em geral, realizam o ciclo assexuado em moluscos do gênero *Biomphalaria* (Américas Central e Sul e África). Os espécimes adultos são encontrados nos vasos mesentéricos e no sistema porta de mamíferos das ordens Primates, Rodentia, Artiodactlyla e Carnivora.

Schistosoma mansoni Sambon, 1907

Espécie que acomete humanos e pequenos mamíferos na região neotropical e na África. A análise comparativa entre o DNA mitocondrial de cepas africanas e da região neotropical, confirmou a sua introdução mais recente na América do Sul, ao que tudo indica, com o tráfico de escravos (Desprès, Imbert-Establet & Monnerot, 1993). Apesar de a Europa também receber população de escravos e o encontro de ovos de *S. mansoni* em coprólitos, o helminto ali não se estabeleceu, devido à inexistência do molusco suscetível (Bouchet et al., 2002).

A espécie atual e seus ancestrais, provavelmente, tiveram uma co-evolução com hospedeiros pecilotérmicos ou homeotérmicos, pertencentes a distintas classes zoológicas: peixes e tartarugas no Período Devoniano – Era Paleozóica (350-400 mil anos); dinossauros e formas transitórias para aves – Era Mesozóica (250 mil anos); aves e roedores – Paleogêneo (57-68 mil anos); hominídeos – Período Quaternário (1,6 mil anos) (Lenzi et al., 1997).

É consensual que os ancestrais de *S. mansoni* eram trematódeos hermafroditas (Basch, 1990; Combes, 1990, Platt & Brooks, 1997; Lenzi et al., 1997). Os fatores determinantes da mudança de hermafrodita para

dióico estão em discussão há algumas décadas (Basch, 1990). Para a separação dos sexos foram apresentadas três hipóteses: mudança de hábitat arterial para venoso, desenvolvimento do sistema porta nos animais homeotérmicos e adaptação em mamíferos pulmonados terrestres (Basch, 1991). Essas hipóteses foram negadas com base nas análises cladísticas morfológica e filogenética (Morgan et al., 2001). Os autores dessas análises também negam que a separação de sexos tenha evoluído em hospedeiros homeotérmicos, já que crocodilos e hospedeiros pecilotérmicos já eram parasitados por esquistossomos.

O sistema imune também foi aventado como um dos possíveis determinantes da mudança de tipo de reprodução (Lenzi et al., 1997). De acordo com os resultados por análise filogenética, a colonização nos mamíferos que têm um sistema imune mais elaborado parece ter ocorrido depois da separação dos sexos. Restou, portanto, a hipótese de a mudança ter sido determinada pela necessidade de um local especializado, onde os ovos pudessem ser depositados e eliminados para o ambiente externo (Morand & Müller-Graf, 2000).

O dimorfismo sexual foi acompanhado de alterações fenotípicas, como o afilamento do corpo das fêmeas e o surgimento da protandria nos machos (Platt & Brooks, 1997). A modificação surgida no corpo das fêmeas pode ter sido resultado de diferenças determinadas pela especialização na deposição dos ovos. Nas atuais fêmeas houve redução na capacidade de locomoção e musculatura faringiana, porém elas investiram na produção e seleção de local para postura de ovos. Aparentemente, o papel mais importante dos machos para garantir a espécie não é a fecundação, mas a sua musculatura. Aos machos coube o papel de transporte das fêmeas para as pequenas vênulas e a ajuda na ingestão de sangue (Basch, 1990).

Fato pouco comum no reino animal é o acasalamento permanente entre dois espécimes, como ocorre em *Schistosoma* (Popiel, 1986). Além dos aspectos já mencionados que envolvem a filogenia, essa união prolongada poderia mimetizar um hermafroditismo. A dominância do sexo masculino não está limitada à sua maior proporção em um hospedeiro (Morand & Muller-Graf, 2000; Boissier & Moné, 2000), pois os machos controlam a expressão de genes das fêmeas, influenciando o desenvolvimento somático, o sistema reprodutivo e a fertilidade (LoVerde & Chen, 1991; Kunz et al., 1995; Ribeiro-Paes & Rodrigues, 1997; Southgate, Jourdane & Tchuenté, 1998; Kunz, 2001).

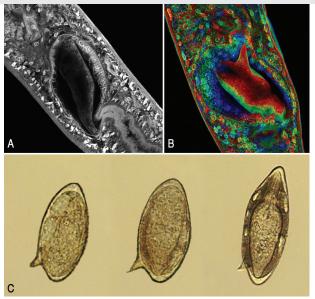
Outros caracteres morfológicos, como o canal ginecóforo e os lóbulos testiculares não foram considerados como determinantes da mudança para sexos separados (Morand & Müller-Graf, 2000). Autores admitem a possibilidade de ter ocorrido uma seleção sexual determinada pela desproporção entre machos e fêmeas, com maior número de machos presentes em infecções naturais ou experimentais (Morand & Müller-Graf, 2000).

Ainda que o sistema imune não tenha sido o determinante da separação entre os sexos, há evidências de que a sua modulação seja específica para cada sexo. Por conta disso, só os machos são capazes de realizar transdução de sinais do sistema imune e subseqüentemente estimular o desenvolvimento das fêmeas (Hernandez et al., 2004). O desenvolvimento e a sobrevivência do helminto dependem da habilidade em interpretar sinais do meio em que ele está vivendo (Vermeire et al., 2003). Isto significa que as fases de vida do helminto apresentam uma extrema capacidade de adaptação, que envolve sucessivas mudanças morfológicas e fisiológicas. O ciclo biológico compreende a realização de uma etapa de reprodução sexuada (vermes adultos dióicos), com produção de ovos em um hospedeiro vertebrado, outra de reprodução assexuada (esporocistos) nos hospedeiros intermediários e fases de vida livre (miracídios e cercárias).

Ovo

É composto por células produzidas por dois diferentes órgãos das fêmeas: glândulas vitelínicas e ovário (Michel, Knobloch & Kunz, 2003). Ao que tudo indica, o sexo do helminto já é cromossomicamente definido no ovo fertilizado (Ribeiro-Paes & Rodrigues, 1997). O miracídio do sexo feminino é heterozigoto (ZW) e os machos, homozigotos (ZZ). Por ocasião da postura dos ovos pelas fêmeas na parede dos vasos mesentéricos (a partir da quarta semana de infecção), nota-se que os ovos ainda são pequenos, imaturos, de simples organização, com uma casca protéica envolvendo um zigoto com 20-30 células vitelínicas. Por microscopia eletrônica de transmissão, o ovo é caracterizado pela casca protéica com uma densa série de microespinhos na sua parte externa e, internamente, o seu maior conteúdo corresponde às células vitelínicas com citoplasma rico em mitocôndrias, gotículas de gordura, vesículas de vários tipos e inclusões granulares. A membrana plasmática da célula vitelínica está em contato direto com a membrana interna da casca do ovo (Ashton et al., 2001). Desde as fases iniciais da formação dos ovos no interior das fêmeas (Figuras 1A, 1B), enquanto estão mudando de estágio (primeiro ao quarto), aumentam até a oitava semana e passam por modificações morfológicas e fisiológicas. Por microscopia de campo claro se evidenciam aumentos cerca de três vezes e meia seu tamanho na área, perímetro e diâmetros. Nos estágios iniciais, placas finas de citoplasma se interpõem entre a casca do ovo e as células vitelínicas. Nos ovos imaturos mais desenvolvidos, as placas se tornam uma membrana contínua de citoplasma (0,2-0,3 μm de espessura), separando a casca das células vitelínicas e envolvendo completamente o conteúdo do ovo, como uma protomembrana.

Os ovos maduros (com um miracídio formado) medem 150 μm de comprimento médio por 65 μm de largura e são facilmente reconhecidos pela presença de um espinho lateral, situado no pólo posterior do ovo (Figura 1C). Entretanto, ovos com dois miracídios já foram encontrados em fezes humanas (Dias & Ribeiro, 1980).

Figura 1 – Fotomicrografia de ovos de *Schistosoma mansoni*: microscopia de varredura laser confocal de ovos uterinos (A, B) e nas fezes (C)

A análise biométrica de ovos de *S. mansoni* em focos de Guadaloupe (Antilhas) mostra que nos focos urbanos de transmissão, onde o homem é o principal hospedeiro, o tamanho é de 186 x 75 μm e os ovos são menos polimórficos no formato do espinho. Nos focos silvestres de responsabilidade dos roedores (*Rattus rattus*), os ovos são menores 176 x 74 μm e mais polimórficos (Théron, 1986).

O espinho mede cerca de 20 μm de comprimento e é formado apenas pela membrana externa do ovo (córion). Nesta etapa, o envelope atinge uma espessura de 0,5-0,6 μm. A membrana plasmática externa prolonga-se em extensões do tipo de microvilosidades, o que demonstra a função de transporte interno desta camada. A membrana interna é lisa. O citoplasma é diferenciado em distintas regiões, onde a maior área é ocupada por microagregrados de natureza granular, e com menor distribuição aparecem grandes vesículas, provavelmente para estocagem de lipídeos. A presença de retículo endoplásmico granuloso é um indicativo de síntese protéica. O espaço existente entre a membrana e a casca (camada de Reynolds) tem 1 μm de largura e é preenchida por material granular. A porção anterior do ovo apresenta poros de diferentes larguras, que estão alinhados por projeções citoplasmáticas que se aderem bem próximo à superfície interna do ovo. Os ovos recuperados de animais infectados ou mantidos *in vitro* apresentam poros (Race et al., 1971) que atravessam obliquamente a casca do ovo (Neill et al., 1988).

Por imunocitoquímica se verifica que o envelope é a região com mais atividade de secreção de proteínas, o que sugere que esta camada é uma fonte secretora mais importante do que o miracídio. A secreção do ovo contribui para a sua travessia dos tecidos digestivos até atingirem a luz intestinal, onde são eliminados com as fezes. Depois de eliminados pelo hospedeiro, no ambiente a longevidade do ovo depende da consistência das fezes e da temperatura. Em fezes sólidas a sobrevida varia entre dois a cinco dias, ao passo que, em fezes líquidas, os ovos duram três dias.

Miracídio

O miracídio tem uma forma cilindrocônica e mede cerca de 160-180 μm de comprimento por 60 μm de largura. A sua superfície é composta por 21 placas epidérmicas ciliadas, anucleadas, ligadas por junções septadas a cristas sinciciais estreitas conectadas a corpos celulares, profundos no corpo. As placas são agrupadas em quatro fileiras, cujos cílios anteriores aumentam de tamanho (4-12 μm) da região anterior para a posterior, principalmente na primeira fila. Na região anterior, o miracídio consiste de uma papila apical em forma de cone (terebratorium), que é representada por pregas anastomosadas do tegumento, semelhantes a favos de mel (Eklu-Natey et al., 1985), não ciliadas e retráteis, e contém a abertura de glândulas (adesivas e de penetração) e numerosos receptores sensoriais. A parede do corpo contém também fibras musculares.

Há uma membrana basal cruzando duas camadas de musculatura lisa que cobrem as estruturas internas que estão banhadas em um líquido claro. O sistema nervoso do miracídio é formado pela união de fibras conectadas às células nervosas por um grande gânglio cefálico localizado após as glândulas cefálicas e composto de uma massa de fibras nervosas com corpos celulares periféricos. Diferente de outros trematódeos, os miracídios de *S. mansoni* não apresentam glândulas cefálicas. Entretanto, por meio de análise transcriptômica foi confirmada a presença de componentes de um sistema de detecção de luz (uma paralogia de rodopsina e rodopsina quinase) consistente com o fototropismo positivo (Verjovski-Almeida et al., 2003).

O sistema excretor é composto de dois pares de células em flama ou solenócitos, que drenam para túbulos coletores que se abrem para o exterior nas laterais do corpo. A principal função seria regular os fluidos internos e eliminar produtos de excreção. Na região posterior do corpo estão presentes numerosas células germinativas primitivas que entrarão em intensa atividade na fase de esporocistos. Nos ovos prestes a eclodir, o miracídio pode ser visto com movimentos de extensão e retração, batimento dos cílios e atividade dos solenócitos. No ambiente aquático os miracídios eclodem do ovo devido à hipotonicidade do meio, que promove a passagem de água para o interior da casca, à temperatura (ótima, em torno dos 28ºC), à luminosidade e à própria movimentação do embrião. Como o ovo não é operculado, a ruptura da casca ocorre em seu ponto de menor resistência, que se apresenta como uma fenda oblíqua.

Após eclodirem dos ovos, as larvas nadam ativamente no meio aquático até o encontro de um hospedeiro. Por videomicroscopia calcula-se que atinjam uma velocidade média de 2 mm/seg, que é produzida por batimentos sincrônicos dos cílios na placa epitelial.

Os movimentos ciliares do miracídio são dependentes da osmolaridade do meio. A alta osmolaridade inibe os movimentos dos miracídios, o que é revertido quando se eleva o conteúdo intracelular de adenosina monofosfato cíclico (AMPc) (Matsuyama et al., 2004). Os autores desses estudos sugerem que a AMPc seja um segundo mensageiro na transdução de sinal para a motilidade ciliar regulada pela osmose nos miracídios.

Não há evidências de que o miracídio alimente-se no ambiente, portanto a sua longevidade e a sua infectividade dependem da exaustão de suas reservas nutritivas (glicogênio). Quanto maior a sua atividade sem encontrar o hospedeiro menor pode ser a sua capacidade de infectá-lo. Em condições de laboratório, em uma placa de Petri, isto pode ser evidenciado em larvas que perdem seus movimentos intensos e passam a nadar em ziguezague e cessam completamente o seu deslocamento, mantendo apenas os movimentos ciliares.

Uma das características da interação de *S. mansoni* com o molusco é o seu grau de especificidade, que se manifesta a partir da atração do molusco pelo miracídio e continua durante as fases de reprodução intramolusco. O encontro do hospedeiro intermediário está ligado a quimiorreceptores localizados nas fibras conectadas às células nervosas. Esses quimiorreceptores são capazes de perceber substâncias existentes no muco produzido pelo molusco, atraindo ou repelindo. Observações de laboratório demonstram que a presença de glicoconjugados da camada superficial do muco do caramujo é o fator desencadeador para a sua localização pelo miracídio (Haas, 1995). Os movimentos destas larvas aumentam quando elas são colocadas em água previamente condicionada pela presença de *Biomphalaria glabrata* (Hassan et al., 2003).

O contato do miracídio com espécies que não sejam hospedeiras, posteriormente, pode reduzir a sua habilidade de infectar uma espécie de molusco suscetível. Ao longo do processo evolutivo, os miracídios desenvolveram uma atração específica pelo hospedeiro (Combes & Moné, 1987). Estudo recente mostrou que os miracídios de uma cepa simpátrica de *S. mansoni* do Egito apresentam maior quimiorientação a moluscos simpátricos compatíveis (*Biomphalaria alexandrina* ou *B. arabica*) do que as outras espécies, *B. glabrata, B. truncatus e Physa acuta*. No mesmo experimento, uma cepa brasileira (Recife) não apresentou capacidade de discriminação entre estas espécies (Hassan et al., 2003). Esta especificidade no comportamento para o encontro do hospedeiro também tem base hereditária. A manutenção de uma cepa do Egito por cinco gerações em *B. glabrata* do Brasil manteve a especificidade do miracídio pelo hospedeiro original, *B. alexandrina* (Kalbe et al., 2004).

A atração miraxonal não ocorre quando o molusco está infectado com esporocisto secundário (Magalhães, Zanotti-Magalhães & Carvalho, 1997). Também se verificou nessas abordagens que esta atração não é afetada pelo fato de o molusco ser infantil ou adulto. Outros resultados mostram que há

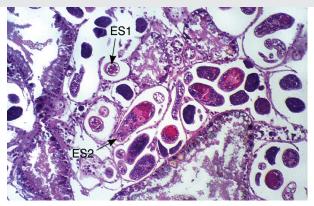
maior atração miracidiana avaliada pela taxa de formação de esporocistos primários, quando os moluscos ainda não são adultos (7-9 mm de diâmetro da concha) (Théron, Rognon & Pagès, 1998).

Os miracídios, quando entram em contato direto com o molusco, aderem-se e penetram neles através das secreções glandulares do terebratorium e movimentos rotatórios. A invasão dura de três a quinze minutos e pode ser feita em qualquer parte mole do tegumento. Em condições de laboratório e mesmo na natureza, o molusco pode ser infectado por apenas um miracídio. Os experimentos que avaliam a capacidade infectante de miracídios, em geral, demonstram que os machos apresentam maior capacidade infectante (Liberatos, 1987).

Nas fases seguintes (esporocistos) do desenvolvimento intramolusco, as células germinativas se dividem e se diferenciam, mantendo o mesmo sexo do miracídio que as originou. Um único miracídio pode gerar de 100 a 300 mil cercárias.

Esporocisto Primário

Devido à imposição de habitar um novo ambiente com diferentes condições fisiológicas (osmolaridade, temperatura, pH, conteúdo de oxigênio, entre outros), os miracídios que penetraram no molusco sofrem rápidas remodelações estruturais nas proximidades de seu ponto de penetração. Por algum tempo permanecem neste local (pés, manto etc.), onde crescem e se transformam em um saco que pode ter a forma alongada ou ovalada (Figura 2). Em duas horas após a penetração, os miracídios perdem o seu revestimento epitelial ciliado e demais estruturas externas (órgãos de penetração). As cristas epiteliais se alargam gradualmente, até que, no segundo dia, uma nova camada superficial contínua aparece ao redor do esporocisto primário ou mãe. Na superfície externa desta membrana aparecem numerosas dobras tipo microvilosidades cobertas com camada eletrodensa que faz trocas metabólicas com a hemolinfa e interage com os hemócitos do molusco. O novo tegumento sincicial contém mitocôndrias, ribossomos, retículo endoplásmico, glicogênio, lipídio e permanecem conectados com os corpos celulares nucleados situados mais sob a superfície. O esporocisto não possui boca e nem sistema digestivo, portanto os nutrientes necessários ao seu desenvolvimento são absorvidos através do seu tegumento. No tegumento é que são lançados os produtos de excreção/secreção e onde as moléculas do hospedeiro e o plasma interagem com o parasito, desencadeando as respostas imunopatológicas do hospedeiro (Yoshino, Boyle & Humphries, 2001).

Figura 2 – Corte histológico de *Biomphalaria* sp. com esporocisto primário (ES1) e esporocisto secundário (ES2) de *Schistosoma mansoni*

O estabelecimento de técnicas que possibilitam a manutenção de formas larvares *in vitro* facilitou as pesquisas de diferentes aspectos biológicos de *S. mansoni*. A função muscular do esporocisto primário é regulada pela presença de serotonina (5-hidroxitriptamina), que aumenta a sua motilidade e comprimento, via ativação de receptores de serotonina (Boyle, Zaide & Yoshino, 2000). A transição da fase de vida livre do miracídio para a parasitária (esporocisto) é caracterizada pelo aumento da dependência de serotonina exógena. A análise por auto-radiografia sugere que a serotonina se localiza nas células glandulares apicais (Boyle et al., 2003).

Esporocisto Secundário

Durante o desenvolvimento posterior, as camadas musculares e as células parenquimatosas degeneram, as células germinativas difusas se tornam mais proeminentes e a porção central do esporocisto se diferencia em uma câmara de maturação, onde as células propagatórias ou germinativas se reproduzem assexuadamente (Figura 2). Em menos de uma semana, o embrião do esporocisto começa a se formar por subdivisões e diferenciações das células germinativas que brotaram da parede interna do esporocisto primário. Após cinco ou seis dias, o esporocisto secundário ou filho abandona o esporocisto mãe e se desloca para o hepatopâncreas (glândulas digestivas) e o ovotéstis do molusco. Nesta etapa os esporocistos medem cerca de 250 μm de comprimento, contêm fibras musculares, sistema nervoso e protonefrídeos. O tegumento assemelha-se à fase anterior pelo seu aspecto sincicial, anucleado, sob uma membrana basal com conexões com os corpos celulares nucleados abaixo das fibras musculares (Brusca & Brusca, 1990).

Para atingirem o estágio de maturidade, os esporocistos secundários sofrem modificações anatômicas, caracterizadas pela presença de três compartimentos: uma região posterior com células indiferenciadas; uma zona dilatada de parede estendida, com cercárias em processo de diferenciação ou já diferenciadas; e uma região anterior, com movimentos próprios, o poro de nascimento da cercária. O poro está situado no centro de uma depressão formada pela invaginação do tegumento do esporocisto. O estudo ultraestrutural desta região revela que a camada citoplasmática do sincício é fina (0,05 a 0,1 μm), contendo mitocôndrias, ribossomos e retículo endoplásmico (Fournier & Théron, 1985).

O tempo necessário para o desenvolvimento no molusco é de três a quatro semanas, quando as cercárias estão maduras para serem liberadas do esporocisto pelo poro de nascimento. Estudos de laboratório evidenciaram a ocorrência de esporocistos replicadores, capazes de produzir novas gerações de esporocistos cercariogênicos, principalmente entre 69 e 77 dias em *Biomphalaria glabrata*. Estes têm a denominação de esporocistos terciários, quaternários etc. Este mecanismo explica a eliminação prolongada de cercárias, ainda que não sejam conhecidos, com precisão, os mecanismos que regulam a formação de novas gerações. Recentemente, demonstrou-se a heterogeneidade genética entre clones de esporocistos secundários mantidos *in vitro* (Bayne & Grevelding, 2003).

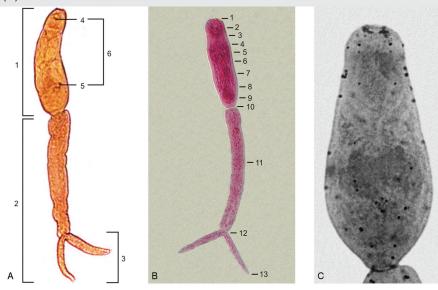
Cercária

A transição da vida parasitária das cercárias para vida livre requer que, ao atravessarem o poro de nascimento no esporocisto, as cercárias já estejam em condições morfológicas e fisiológicas para desempenharem funções especializadas no novo ambiente: ser eliminada do molusco, viver no ambiente externo, apresentar intensa locomoção, ter a capacidade de localizar e penetrar em um hospedeiro vertebrado

(homem ou pequenos mamíferos). Assim como os miracídios, as cercárias não apresentam uma região fototrópica (manchas ocelares). Esta ausência é compensada pela presença de uma proteína de 36-KDa (rodopsina de *S. mansoni*), localizada nas células subtegumentares e que tem extensa preservação filogenética entre invertebrados aquáticos (Hoffman et al., 2001).

A cercária é toda revestida por um tegumento sincicial, com uma região citoplasmática anucleada, diretamente subjacente à membrana superficial contínua, com corpos celulares situados mais profundamente no parênquima. Uma membrana plasmática trilaminada sobre uma membrana basal também trilaminada formam a superfície externa do tegumento, que é coberta por numerosas fibrilas (glicocálix), com 0,008-0,01 μm de espessura. O glicocálix é uma molécula complexa formada de oligossacarídeos que atuam, entre outras funções, protegendo a permeabilidade da cercária. O glicocálix cobre também os espinhos, dirigidos para trás no tegumento, exceto no ápice oral do órgão anterior, com suas curvaturas laterais e papilas sensoriais, na depressão ao redor da boca, no colar da junção corpo/cauda e na extremidade das furcas (Dorsey et al., 2002). A espessura do tegumento do corpo tem cerca de 0,5 μm e a cauda, 0,2 μm.

A cercária mede cerca de 500 μm de comprimento, tem uma organização complexa, com corpo alongado e cilíndrico e cauda de extremidade curta e bifurcada, fundamental para o deslocamento no ambiente (Figura 3A). O corpo cercariano, com cerca de 200 μm de comprimento, tem duas regiões bem definidas: a região anterior, especializada na fixação e invasão do seu hospedeiro, e a posterior, com as glândulas que desembocam na ventosa oral (órgão anterior), uma ventosa ventral (acetábulo), células do sistema digestivo, células nervosas, células musculares, papilas sensoriais, células do sistema osmorregulador e células germinativas que originam os órgãos sexuais nos vermes adultos. Por ser um organismo acelomado, a cercária possui uma quantidade substancial de parênquima celular, consistindo de células de suporte que funcionam como um celoma e uma matriz extracelular fibrosa (Dorsey et al., 2002). Para um melhor entendimento da localização das estruturas, a cercária pode ser dividida em 13 segmentos (Figura 3B), a partir do órgão anterior (1 a 4), dessa área até a junção corpo/cauda (5 a 10) e a cauda (11 a 13) (Dorsey et al., 2002).

Figura 3 – Organização geral de cercárias de *Schistosoma mansoni* (A, B) e distribuição de papilas argentofílicas (C)

No parênquima do corpo há quatro tipos de células subtegumentares (I, II, III e IV), com o pericário associado ao tegumento através de pontes citoplasmáticas. Cada célula consiste de um núcleo envolvido por inclusões específicas a cada tipo celular. As células do tipo I se localizam subjacentes às camadas musculares periféricas mais externas da parede e estão distribuídas ao longo de todo o corpo da cercária. O citoplasma do pericário contém um grande núcleo heterocromático, uma pequena quantidade de complexo de Golgi (aparelho de Golgi), poucas mitocôndrias, numerosos ribossomos e corpos secretores.

As células do tipo II têm formas irregulares, um grande núcleo heterocromático e pontes citoplasmáticas, pouco organizadas, ao redor do cone muscular da ventosa oral. Essas células estão aglomeradas na extremidade dorso-anterior do corpo, à mesma altura do par anterior das células em flama e do músculo, que delimita a região anterior do corpo do restante corpo cercariano (segmentos 4-5). As células do tipo III têm um pequeno pericário em forma de ferradura e ficam localizadas próximas à parede muscular do corpo, exatamente anteriores à ventosa ventral (segmentos 7-8). A morfologia celular e a reatividade ao teste de Pearse sugerem que essas células sejam células biogênicas de aminas (moduladores de neurotransmissores). As células subtegumentares do tipo IV são pouco numerosas, com o pericário e as pontes citoplasmáticas situadas na região mediana do corpo cercariano, região imediatamente anterior ao fundo da glândula pré-acetabular (segmentos 6-7).

Nas formas de vida livre dos trematódeos, a região mais apical das cercárias é diferenciada, com uma ventosa oral (órgão anterior), assimétrica, em forma de disco sem espinhos no ápice, onde desembocam na área ântero-dorsal os longos ductos das glândulas de penetração ou acetabulares (pré e pós) e na área ântero-ventral, os da glândula cefálica (segmentos 1 a 3). O fundo desta glândula é adjacente à curvatura póstero-dorsal muscular que delimita a região posterior da ventosa oral (Dorsey et al., 2002). Para as glândulas de penetração existem 10 ductos circundados por uma borda pregueada do tegumento e distribuídos lateralmente em dois semicírculos, com cinco aberturas em cada (McLaren, 1980).

A extremidade anterior é também composta por receptores sensoriais (papilas), que respondem a sinais térmicos, químicos e mecânicos, regulando o comportamento das cercárias no ambiente. Papilas sensoriais são terminações nervosas situadas na superfície das cercárias, que fazem contato com o ambiente através de cílios ou aberturas no tegumento. Existem aproximadamente 76 papilas distribuídas bilateralmente e simetricamente no corpo, na extremidade oral e, em menor quantidade, na cauda (Short & Cartrett, 1973). Na extremidade convexa das pregas tegumentares externas de cada semicírculo são encontradas sete papilas sensoriais (McLaren, 1980). As papilas são classificadas em seis tipos, de acordo com as suas características morfológicas e a sua distribuição, que varia entre o órgão anterior, o corpo e a cauda. Ainda que na ventosa oral sejam encontrados cinco tipos de papilas, os três seguintes são apenas desta região:

- terminação nervosa bulbar do tipo I – encontradas no parênquima, medem 2,5 por 2,0 μm de diâmetro e consistem de uma cavidade em cuja parede nasce um cílio que se projeta para o lume;
- depressões multiciliadas – em número de quatro ou mais. Cada depressão tem uma cavidade aberta que é exposta à superfície e conectada ao tegumento por um desmossoma septado;
- terminação nervosa bulbar do tipo II – encontradas entre o tegumento e os músculos subtegumentares na região apical do órgão anterior. Essa terminação nervosa consiste de uma cavidade com um lúmen contendo vesículas neurosecretoras.

Comum a outras áreas, as papilas uniciliadas embainhadas geralmente estão localizadas na extremidade apical da região oral; entretanto, algumas são encontradas na ventosa ventral e na cauda. Os cílios têm 2,5 μm de comprimento e são embainhados quase até as suas extremidades ou completamente cobertos. As papilas consideradas embainhadas são envolvidas pelo tegumento em pelo menos metade de sua altura. Outro tipo, papilas uniciliadas não embainhadas, as mais abundantes das papilas das cercárias, estão presentes no órgão anterior, no restante do corpo (inclusive na ventosa ventral) e na cauda. A conexão com o tegumento se dá por um desmossoma septado, circular. O cílio tem 1-1,5 μm de comprimento e tem um modelo (9+2) de microtúbulos simples e duplos (Dorsey et al., 2002).

O sistema digestivo se inicia na região anterior. O tegumento e as miofibras longitudinais e circulares da parede do corpo se dobram para o interior para circundar a cavidade bucal (dobra da parede) e o esôfago. A parede externa é constituída de finas projeções situadas na matriz granular que separa a musculatura do esôfago. No fundo da boca tem a cavidade bucal, onde o esôfago se une, penetra no cone muscular e se conecta ao ceco. No lúmen do esôfago existem três tipos de células subesofagianas (I, II e III), assim classificadas de acordo com a sua localização. As células do tipo I ficam posteriores aos fundos da glândula cefálica. Cada célula parece estar conectada à extremidade anterior do esôfago por uma ponte citoplasmática simples. As células do tipo II ficam agrupadas ao redor do esôfago, próximo ao cone muscular na extremidade da ventosa oral (planos 3-4). As células do canal alimentar não parecem funcionais na cercária (Dorsey et al., 2002), o que é condizente com a suspeita de que as larvas não se alimentam no ambiente.

Na região anterior das cercárias, o miócito é uma célula alongada com duas áreas distinguíveis, dependendo da presença ou ausência de miofilamentos. O corpo celular é geralmente em forma de bastão e contém um grande núcleo heterocromático. A maioria das organelas celulares (muitas mitocôndrias, pequenas quantidades de complexo de Golgi, retículo endoplasmático, grande número de ribossomos livres e partículas de glicogênio) está situada próxima à zona afibrilar (Dorsey et al., 2002).

Entre o cone muscular espesso da ventosa oral e a musculatura circular subtegumentar (segmentos 3-4), há uma estrutura alongada, em forma de pêra, que se afila em direção posterior. Ao que parece, possui função sensorial (Dorsey et al., 2002).

As duas células de suporte da ventosa oral são grandes, compactas, situadas na região dorsal próxima ao esôfago, e estão justapostas com os ductos das dez glândulas acetabulares e os da glândula cefálica (Dorsey et al., 2002). Um grupo de células de suporte do corpo consiste de duas ou três células, que são encontradas próximo ao cone muscular na extremidade anterior do corpo cercariano (segmentos 4 e 5).

As miofibras das cercárias variam em tamanho e distribuição entre a ventosa oral (órgão anterior) e o corpo. As fibras musculares grandes são características da musculatura subtegumentar, da ventosa ventral e dos músculos radiais. A marcação dos filamentos de actina com palodina marcada com isotiocianato de fluoresceína e análise por microscopia de varredura laser confocal permitiu evidenciar que no órgão anterior há fibras musculares circulares e transversais, inclusive no cone anterior que rodeia a boca (Mair et al., 2003). A organização da parede muscular no corpo consiste de fibras musculares circulares externas e longitudinais internas, entrelaçadas, cuja contração, possivelmente, permite o alongamento e o encurtamento do corpo (Mair et al., 2003). Na metade anterior do corpo são evidenciados três feixes de fibras diagonais que se localizam abaixo da camada de fibras musculares longitudinais. Essas fibras estão presentes em posição ventral e dorsal, sugerindo que a sua atividade permite o movimento lateral da região anterior e um certo grau de torção (Mair et al., 2003). As miofibras pequenas

com miofilamentos esparsos acompanham a boca, cavidade bucal, esôfago, glândulas acetabulares, cecos, células em flama, anéis nervosos, túbulos osmorreguladores e vesícula excretora (Dorsey et al., 2002). A musculatura do esôfago é constituída também por fibras musculares circulares e transversais (Mair et al., 2003).

O sistema digestivo da cercária termina em um fundo de saco fechado, que se conecta ao final do esôfago por um complexo desmossoma septado. No interior da parede do ceco se evidencia um núcleo eucromático, ribossomos, quantidades esparsas de retículo endoplasmático, aparelho de Golgi e poucas mitocôndrias com crista longa. A superfície do lúmen do ceco é complexa, com muitas vilosidades, e geralmente contém corpos com diferentes formas e eletrodensidades. A superfície externa é irregular devido às pregas, talvez representando seu estado de fluxo constante. Imediatamente anterior ao ceco (segmentos 5-6), são evidenciadas células subesofagianas do tipo III. Parece que essas células formam a principal glândula esofagiana, que está alinhada ao esôfago, à altura do gânglio central (Dorsey et al., 2002).

O sistema nervoso da cercária consiste de um gânglio central e seis pares de troncos nervosos longitudinais. O gânglio central cobre a parte anterior do esôfago até o ceco bifurcado. O pericário tem uma forma irregular com núcleo heterocromático e citoplasma com mitocôndrias, pequenas quantidades de retículo endoplasmático, partículas de ARN e vesículas. As papilas multiciliadas embainhadas têm um corpo bulbar com dois ou três cílios projetando de sua superfície. Esse tipo de papila é observado principalmente na parte central do segmento anterior do corpo cercariano (segmentos 4 a 6) (Dorsey et al., 2002).

O corpo cercariano é ocupado em grande parte por grandes glândulas unicelulares em forma de frascos (segmentos 4 a 10), situadas anteriores ou posteriores ao acetábulo (ventosa ventral). Essa ventosa, maior do que a oral, tem forma de taça e se localiza na parte ventral do corpo cercariano (segmento 8). Os músculos longitudinais se estendem para o exterior. Poucas fibras circulares ocupam a borda externa da ventosa ventral. O seu centro contém, aparentemente, uma fileira desorganizada de fibras musculares ancorada à parede do corpo, de cada lado, por três pares de feixes de fibras musculares (Mair et al., 2003). A ventosa ventral tem importante papel durante a penetração da cercária no hospedeiro, visto que, alternadamente com a ventosa oral, ela se fixa à pele do hospedeiro onde foi depositado o muco secretado pelas glândulas (Dorsey et al., 2002). Os fundos e os ductos são abarrotados com corpos secretores produzidos no esporocisto. As quatro glândulas pré-acetabulares unicelulares, situadas no segmento 7, contêm uma variedade de enzimas proteolíticas (Dorsey et al., 2002). Nos seis pares de glândulas pós-acetabulares, os fundos e os ductos contêm grandes corpos secretores cujo conteúdo é de uma mistura de mucossubstâncias que facilitam a adesão da cercária à pele do hospedeiro.

Logo após os fundos da glândula pós-acetabular (entre os segmentos 9 e 10), na área ventral, há uma massa de células, as células germinativas. Essas células têm a forma de haste, com núcleo heterocromático e citoplasma rico em ribossomos, mitocôndrias, aparelho de Golgi e retículo endoplasmático granular. Nesse segmento aparecem células de suporte do tipo II, com núcleo eucromático, citoplasma com moderado número de mitocôndrias e pouco retículo endoplasmático granular. Essas células se diferenciam das do tipo I (presentes nos segmentos 4 e 5) por apresentar uma membrana nuclear menos densa.

O sistema de osmorregulação é mais complexo do que nos miracídios. Os túbulos coletores têm um lúmen cercado por células alongadas com núcleo bem definido e citoplasma relativamente homogêneo, com poucas vesículas e mitocôndrias. Os túbulos que essas células formam se prolongam do par anterior das células em flama até o cone muscular da ventosa oral (segmento 4), a vesícula excretora

(segmento 10) e a cauda bifurcada (segmento 13). No corpo, pequenos túbulos das células em flama se conectam com células secundárias para formar um par de túbulos principais com paredes grossas. Cada túbulo principal se divide nos túbulos dorsal e ventral. Os ramos ventrais se curvam e entram na vesícula, paralelos entre si. Os ramos dorsais não entram na vesícula e se dirigem para trás e entram na cauda, terminando em células em flama. Na zona pré-vesicular tem uma célula com um grande núcleo monocromático com esparsa quantidade de cromatina densa (Dorsey et al., 2002).

Cada célula em flama (solenócito) tem uma forma irregular com um grande núcleo lobado, heterocromático, retículo endoplasmático granular, complexo de Golgi, mitocôndrias, vesículas de tamanhos variáveis e um proeminente feixe de cílios longos que se projetam para o lúmen da primeira célula tubular. Aparentemente, existem seis pares de células em flama, dos quais cinco situados no corpo e um na cauda. O tecido que compõe a vesícula excretora parece ser composto de células individuais com núcleo heterocromático e poucas mitocôndrias. A parte anterior dessa vesícula é rodeada por feixes musculares, enquanto nas áreas central e posterior há redução na musculatura dorsal (Dorsey et al., 2002). A organização da musculatura próxima à vesícula é diferente de outras áreas do corpo. Os músculos longitudinais parecem estar separados em feixes musculares unidos por cordões de fibras musculares.

A cauda da cercária é um órgão locomotor temporário que consiste em duas partes, o talo e a cauda bifurcada. Os quartos anteriores do talo apresentam musculatura circular e longitudinal, morfologicamente similares ao corpo. Deste, entretanto, diferencia-se na musculatura longitudinal por conter uma área sem miofilamentos visíveis (área afibrilar) e outra que contém densas fileiras paralelas de miofilamentos (área fibrilar) (Dorsey et al., 2002). Nas proximidades da metade do talo (segmento 11), a musculatura é estriada, não sendo conhecida a sua função na larva.

No parênquima da cauda são encontrados apenas miócitos, neurônios, células osmorreguladoras e células de suporte. A cauda bifurcada contém musculatura longitudinal, com miofibras circulares e transversas cuja atividade permite que as furcas atuem como remos durante a natação das cercárias (Mair et al., 2003). As células de suporte da cauda se diferenciam pelo tamanho, organização e localização. No terço anterior da cauda, as células grandes têm um núcleo heterocromático, citoplasma muito denso devido à presença de numerosos ribossomos. As células pequenas estão situadas na região média do talo (segmento 11) e são completamente envolvidas por células musculares. O citoplasma é denso e tem poucas mitocôndrias e retículo endoplasmático rugoso. Ao que parece, a função dessas células é impedir que as células musculares entrem em colapso, assim como ajudar a manter a posição correta dos ductos osmorreguladores no parênquima da cauda (Dorsey et al., 2002).

A luz induz a eliminação de cercárias, ocorrendo preferencialmente nas horas mais claras do dia (Rey, 2001). Estudos feitos em laboratório com *B. glabrata* infectada com a cepa BH (Belo Horizonte, Minas Gerais) de *S. mansoni* evidenciam que existe um ritmo circadiano na dinâmica de eliminação com acrofase (pico de eliminação em torno de 15 horas) (Bogéa et al., 1996). Esses autores verificaram que apenas 5% das cercárias eram eliminadas no período noturno. Observações feitas em *B. glabrata* de Guadaloupe indicam a ocorrência de duas acrofases, uma diurna (por volta das 11 horas) e outra vespertina (por volta das 16 horas) (Théron, 1984). Para este autor, a diferença intraespecífica na cronobiologia da cercária está relacionada com as características ecológicas do foco de transmissão. O modelo de acrofase diurna caracteriza populações de esquistossoma originárias de focos urbanos, com o homem desempenhando maior papel na transmissão. A tardia está relacionada com focos silvestres, onde os roedores atuam como os principais hospedeiros.

Para o município de Sumidouro (Rio de Janeiro), a acrofase de uma amostra humana é matutina (em torno das 11 horas) e a de roedor (*Nectomys squamipes*) é tardia (16 horas). Embora diminua à noite, a amostra murina elimina cercárias até às 24 horas (Machado-Silva, 1981).

A utilização de roedores como animais sentinelas é um recurso para avaliar a dinâmica de transmissão de cercárias de *S. mansoni*. Camundongos expostos a um foco em Sabará (Minas Gerias) apresentaram 26,4% de infecção na parte matutina (9h-11h30m), 88,9% no período vespertino (15h-17h30m) e 65,5% entre 23h10m e 0h10m. No período matutino (9h30m-11h30m), predomina a infecção unissexual (Pellegrino & Maria, 1966). Espécimes de *N. squamipes*, criados em cativeiro, foram colocados em um foco em Sumidouro e se infectaram no período diurno (10h-14h) e crepuscular (17h-21h) (D'Andrea et al., 2002). A maior disponibilidade de formas infectantes, coincidente com o hábito do hospedeiro em freqüentar o foco, otimiza o contato entre ambos (Bogéa et al., 1996).

O padrão de eliminação de cercárias é um fenômeno geneticamente determinado. Experimentos realizados com cruzamentos entre *S. mansoni* e *S. rodhaini* mostraram que os híbridos preservam o modelo cronobiológico dos pais, isto é, diurno (*S. mansoni*) ou noturno (*S. rodhaini*) (Théron, 1989). O ritmo circadiano é também mantido entre cepas cronobiológicas (diurna e vespertina), simpátricas, de *S. mansoni* (Théron, Mouahid & Moné, 1997).

Os receptores sensoriais (papilas) do corpo cercariano, quando corados por nitrato de prata, apresentam um padrão útil para estudos taxonômicos em cepas de *Schistosoma* sp. (Figura 3C, visualizada anteriormente). Nas africanas, as papilas laterais apresentam disposição triangular, ao passo que, nas americanas, a disposição é linear (Bayssade-Dufour, 1977). As cepas humanas africanas apresentam o índice cercariano (média das distâncias entre a primeira e a segunda papilas laterais pré-acetabulares e entre a primeira e a segunda papilas dorsais pré-acetabulares) menor (1,0) do que o das americanas (1,4) (Bayssade-Dufour, 1979). Esse índice sofre variações de acordo com o hospedeiro e o número de passagens do *S. mansoni* em laboratório (Cassone, Albaret & Jourdane, 1981).

Embora o sexo já esteja definido desde a formação do miracídio, assim como essa fase, a cercária também não apresenta órgãos genitais característicos de cada sexo. Mesmo assim, a distinção entre os sexos tem sido apontada por distintas abordagens genotípicas e fenotípicas. A análise da heterocromatina do cromossomo W das fêmeas é feita pela reação de polimerase em cadeia (PCR) (Spotila et al., 1987; Gasser, Marahan & Mitchell, 1991; Grevelding, 1995; Grevelding, Sommer & Kunz, 1997; Boissier, Durand & Moné, 2001) e por citologia. As cercárias fêmeas apresentam apenas uma célula sexual e os machos, duas (Raghunathan & Bruckner, 1975).

Com base no estudo das papilas argentofílicas, os machos apresentam homogeneidade do número de papilas dorsais e ventrais do corpo e da cauda, número total de papilas ventrais do corpo, maior presença de papilas nos quadrantes inferiores direito e esquerdo da superfície ventral e menor distância entre as papilas cefálicas laterais (Pino & Morales, 1990; Pino et al., 1988). O mesmo tipo de análise foi realizado entre cepas isoladas de humanos e roedores no município de Sumidouro (Rio de Janeiro). Os machos apresentaram maior índice cercariano do que as fêmeas e se diferenciavam pelo número médio de papilas dorsais e papilas mediais ventrais no quadrante direito (cepa de humanos) e número médio de papilas dorsais medianas no quadrante esquerdo (cepa de roedor) (Freire et al., 2002).

A associação da morfometria com análise computadorizada e análise discriminante permite a distinção específica entre representantes do grupo *S. mansoni*. Cercárias com corpo cercariano médio

de 122,7 μm e 217,2 μm de cauda são classificadas como *S. mansoni*, ao passo que 130,2 μm (corpo) e 232,9 μm (cauda) correspondem a *S. rodhaini* (Touassem, Cabaret & Combes, 1992). Em geral, as fêmeas apresentam maiores dimensões no corpo, no talo e na cauda bifurcada, enquanto os machos são maiores nas medidas das ventosas (Machado-Silva et al., 2000).

Há um acúmulo de informações que sugerem diferenças comportamentais entre os sexos das cercárias. À temperatura de 20-23°C, a proporção macho/fêmea é 1:1,2, enquanto a 27-29°C a proporção é de 2:1 (Souza, 1995). As fêmeas apresentam melhor desempenho do que os machos quanto ao desenvolvimento em moluscos de maior tamanho, à produção de cercárias e a uma longevidade maior. Os machos apresentam maior infectividade. Esses achados são interpretados como o desenvolvimento de estratégias adaptativas diferentes entre os sexos (Boissier, Morand & Moné, 1999).

Cercárias recém-eliminadas nadam ativamente, com movimentos característicos, acionados, sobretudo, pela movimentação da cauda (Cunha, 1970). O deslocamento que é feito com a cauda na frente se deve aos movimentos ativos para cima e passivos para baixo, que levam as cercárias para a superfície da água, onde permanecem até o esgotamento de suas reservas de glicogênio (Curwen & Wilson, 2003). Por apresentarem um sistema digestivo não funcional e não se alimentarem no ambiente, a longevidade da cercária se torna limitada. À medida que aumenta a temperatura, a longevidade diminui (Lawson & Wilson, 1980). Nas primeiras oito horas de vida, acima de 90% das cercárias permanecem vivas com atividade; entretanto, a partir dessa idade perdem a capacidade de fixação (Whitfield et al., 2003).

Diversos estudos realizados com modelos *in vivo* (camundongos) e *in vitro* (pele humana ou com cultura de ceratinócitos humanos) verificaram os mecanismos de localização do hospedeiro, fixação e invasão das cercárias (Curwen & Wilson, 2003; Whitfield et al., 2003a; Lawson & Wilson, 1983; McKerrow & Salter, 2002; McKerrow, 2003; Whitfield et al., 2003b).

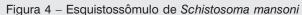
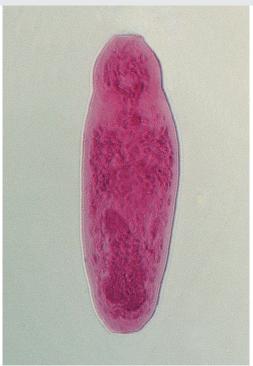
As cercárias, no ambiente, respondem a diversos estímulos. Turbulência e escuridão aumentam o período de natação, enquanto os produtos químicos da pele são os mais estimulantes, pois causam constante natação e mudança de direção nas cercárias (Curwen & Wilson, 2003). Não há evidências de movimento em direção ao hospedeiro (taxia), sendo aceito que a cercária responde a gradientes térmicos (termotaxia) (McKerrow, 2003). É consensual que a maior atividade de natação da cercária (cinese) aumenta a probabilidade de encontro com o hospedeiro (Curwen & Wilson, 2003; McKerrow, 2003).

A partir do contato com o hospedeiro, a cercária precisa se fixar, invadir e migrar para a pele do hospedeiro, em uma série de eventos que envolvem a resposta a sinais químicos do hospedeiro e alterações morfológicas da larva. Estabelecido o contato, a cercária se contrai e se fixa, fortemente, à pele pelas ventosas, adotando uma posição paralela à superfície da pele. Essa fixação é estimulada por L-arginina e assegurada por ceramidas e acilgliceróis (Haas et al., 2002; Haas et al., 1997). A invasão da pele do mamífero é decorrente da intensa ação vibratória da cauda e secreções das glândulas pré e pós-acetabulares, após a estimulação por ácidos graxos como o ácido linolênico. Recentemente, foi demonstrado que a secreção das glândulas pós-acetabulares (mucossubstâncias) é estimulada por lipídios da pele (Haas et al., 1997). Os autores de tais estudos mostraram também a secreção das glândulas pré-acetabulares (que contêm proteases) por dois mecanismos, combinados ou não com o processo de invasão ou com dano tecidual. Na vigência de invasão e dano tecidual, apenas os ácidos graxos estimulam a secreção. Quando esses fatores estão ausentes, possivelmente o estímulo é fosfatidilcolina.

As contrações e alongamentos das cercárias provocam o contato dos espinhos do tegumento com a pele do hospedeiro, o que pode levar a uma abrasão e alargamento da cavidade de penetração da cercária (McLaren, 1980). No processo de invasão, que não ultrapassa 15 minutos, a cercária perde a cauda e o corpo cercariano inicia a migração pela pele do hospedeiro (Cunha, 1970). No entanto, estudos com pele humana demonstraram que após a invasão a cauda continua presente, o que foi denominado perda atrasada da cauda (Whitfield et al., 2003a).

Esquistossômulo

A transição de vida livre para uma vida parasitária com diferentes temperaturas, concentração de açúcar e osmolaridade induz a mudanças bioquímicas e morfológicas nas cercárias. A transformação de cercárias para esquistossômulo é representada por respiração anaeróbica, perda da cauda (Figura 4), eliminação progressiva do glicocálix, esvaziamento das glândulas secretoras e reorganização do tegumento, com acúmulo de uma proteína transportadora de glicose (SGTP4) na rede de cítons (corpos membranosos) subtegumentares (Skelly & Shoemaker, 2000). Uma das conseqüências da ausência do glicocálix é o aumento da permeabilidade do esquistossômulo à água (McLaren, 1980).

Figura 4 – Esquistossômulo de *Schistosoma mansoni*

A partir da penetração no hospedeiro vertebrado, o tegumento se torna especializado para absorção e secreção e para atuar como o sítio das ações imunológicas do hospedeiro. Os estudos ultraestruturais dos esquistossômulos recuperados 30 minutos após passagem pela pele ou mantidos *in vitro* ainda apresentam membrana externa trilaminada, porém com menor espessura. As células subtegumentares

contêm pequenos corpos laminares que são transportados para o tegumento por conexões citoplasmáticas. Nos espécimes com 60 minutos, os corpos membranosos se fundem para formar grandes vacúolos com membrana externa heptalaminada. Com três horas, a maior parte da membrana externa é heptalaminada e o tegumento contém grandes vacúolos, corpos alongados e pequenos corpos membranosos. No esquistossômulo de 24 horas, a principal modificação é a formação de pregas e cavidades na superfície (McLaren, 1980; Hockley & McLaren, 1973).

A marcação da superfície do esquistossômulo por auto-radiografia mostra, pelo menos, 12 glicoproteínas que não são identificadas em cercárias (Brusca & Brusca, 1990). A transformação torna o tubo digestivo funcional, diferente da cercária, onde não é funcional. Estudo recente em esquistossômulos identificou vesículas, no tubo digestivo, que poderiam ser grandes lisossomos (Carneiro-Santos et al., 2001). Essas organelas ricas em fosfatase ácida também estão presentes nas células musculares, com papel não esclarecido na fisiologia do esquistossômulo (Al-Adhami et al., 2003).

Diversos autores procuraram estabelecer os fatores envolvidos na morfogênese do tegumento durante a transição de cercária para esquistossômulo (Gilbert et al., 1972; Stirewalt, 1974; Ramalho-Pinto et al., 1975; Haas, 1984). Admite-se que a invasão da pele, por si só, não seja o fator determinante, pois a transformação acontece sem penetração (Skelly & Shoemaker, 2000). Esses autores avaliaram o padrão de distribuição de SGTP4 em esquistossômulos mantidos em cultura, com diferentes osmolaridades ou incubados com ácidos graxos. Os ácidos linolênico e capróico, que estimulam a invasão das cercárias e a perda da cauda, não foram fatores indutores de morfogênese. A introdução de glicose no meio e a elevação da temperatura aumentaram o percentual de esquistossômulos do estágio 3 (com SGTP4 nos cítons superficiais), o que sugere um efeito sinérgico entre esses fatores. No esquistossômulo recém-transformado, ao fim de três horas esse transportador está uniformemente distribuído no tegumento (Skelly & Shoemaker, 2000).

Após a invasão da pele e transformação em esquistossômulo, o parasito necessita se deslocar da epiderme em direção à derme e sair por via sanguínea ou linfática. Não parece haver contestações de que esse deslocamento requer que os esquistossômulos vençam barreiras. Entretanto, os autores divergem com relação às barreiras, o tempo necessário para vencê-las e como as secreções glandulares, principalmente a elastase cercariana (protease cercariana) da glândula pré-acetabular, destroem essas barreiras (Curwen & Wilson, 2003; McKerrow, 2003). Isso se deve, em parte, ao uso de diferentes abordagens de estudo: pele humana, pele de roedores e cultivo *in vitro*. Como consenso, admite-se que a penetração do parasito na epiderme envolva a degradação de moléculas de adesão extracelular, como as proteínas da família caderina (Curwen & Wilson, 2003; McKerrow, 2003). Em pele de rato recém-nato, 7% da população migram em 15 minutos, aumentando para 41% em 60 minutos (McKerrow, 2003). Para alguns autores, a atividade proteolítica só cessa após o esquistossômulo atingir o espaço vascular. O conteúdo glandular da glândula cefálica permanece em esquistossômulos com mais de 40 horas e, naqueles de três dias, permanece a elastase cercariana (McKerrow & Salter, 2002; McKerrow, 2003). Outros experimentos revelam que as glândulas acetabulares e as cefálicas já estão vazias nos esquistossômulos com 40 horas de idade, questionando a participação dessas secreções no processo invasivo da derme (Curwen & Wilson, 2003).

Estudos recentes *in vitro* identificaram fatores sinalizadores da migração dos esquistossômulos. Após a penetração, os esquistossômulos migram lateralmente dentro de túneis paralelos à superfície da

epiderme e se deslocam para as camadas mais profundas da pele. Os esquistossômulos apresentam foto-orientação negativa (Grabe & Haas, 2004a), respondem a gradientes químicos do soro humano (L-arginina e D-glicose) e peptídeos no soro e células endoteliais (fibronectina e bradicinina). Os esquistossômulos ajustam o eixo do corpo com lado ventral voltado para a maior concentração de L-arginina e D-glicose (Grabe & Haas, 2004b). Os autores desses estudos comentam que a concentração de glicose aumenta, progressivamente, da pele até o sangue, assim como a concentração de arginina, que é maior nas camadas epidérmicas mais profundas.

Após saírem da pele, os esquistossômulos invadem um vaso sanguíneo, passam pela pequena circulação e chegam aos pulmões, ao que parece, por volta de quatro a cinco dias após a infecção, de acordo com o hospedeiro empregado: hamster, rato ou camundongo. A cinética de migração do esquistossômulo em pele de coelho, através de auto-radiografia, demonstra que, no primeiro dia, os esquistossômulos ainda estão concentrados na pele. A partir do segundo dia, a concentração na pele diminui progressivamente, com acúmulo no pulmão por volta do sexto dia de infecção (Pinto et al., 1990). Nessa fase, os esquistossômulos são maiores, com cerca de 400 μm de comprimento e mais estreitos do que os encontrados na pele, com as extremidades (anterior e posterior) cobertas por espinhos. As principais mudanças no tegumento são a superfície pregueada e escavada, ao passo que a membrana tegumentar externa continua heptalaminada (McLaren, 1980; Hockley & McLaren, 1973).

Os espécimes coletados no pulmão, com cerca de 14 dias de idade já apresentam o ceco preenchido por pigmento, resultante da digestão de hemoglobina. A área da superfície do tegumento é quatro vezes maior do que no esquistossômulo de sete dias (Hockley & McLaren, 1973). A permanência dos esquistossômulos por dois a três dias nos pulmões, com mudanças nas dimensões e grande atividade, podem ser pré-requisitos para a sua migração, através da rede vascular pulmonar, em direção ao fígado (Rey, 2001). Os primeiros esquistossômulos chegam ao fígado em torno de uma semana, após a infecção. Porém, nessa migração ocorre um acentuado assincronismo (Barbosa et al., 1978), possivelmente relacionado a diferenças na capacidade dos esquistossômulos para entrar em artérias que os conduzam ao sistema porta-hepático (Rey, 2001).

A transição da forma pulmonar para a hepática envolve significativas mudanças morfológicas e fisiológicas nos esquistossômulos. Com base nas características morfológicas do tubo digestivo, foram definidos seis estágios evolutivos (esquistograma):

- (forma pulmonar): ceco em desenvolvimento com pouco pigmento;
- (formação do tubo digestivo): ceco bifurcado sem ultrapassar a ventosa ventral;
- ceco bifurcado que ultrapassa a ventosa ventral e se une mais abaixo, formando um ceco único;
- ceco único menor do que o ceco bifurcado;
- ceco único maior do que o bifurcado, porém não ultrapassa três vezes o tamanho do ceco bifurcado;
- ceco único três vezes maior do que o ceco bifurcado (Barbosa et al., 1978). A ingestão de hemácias e a divisão celular começam nos espécimes com 15 dias (estágio dois), recuperados do fígado (Clegg, 1965).

A topografia da superfície dos esquistossômulos também passa por mudanças. No estágio dois, a superfície é pregueada e estriada, sem evidências de depressões como as encontradas nas formas pulmonares. O tegumento tem uma espessura de cerca de 2 μ, sem diferenças entre as formas com duas ou três semanas de idade (McLaren, 1980).

Transição esquistossômulo-vermes adultos

Após chegarem ao fígado, as formas imaturas rapidamente dão início a organogênese, que é bem caracterizada a partir do terceiro estágio (21 dias). O sistema reprodutor se diferencia da grande maioria dos trematódeos digenéicos, pois não tem órgão copulador (cirro) e mais de um testículo. Os machos, ainda não totalmente desenvolvidos, apresentam dois pequenos lobos testiculares e uma curvatura dorsoventral do corpo, o canal ginecóforo, parcialmente desenvolvido. Nas fêmeas, o útero é rudimentar, o tegumento é composto de estrias largas, profundas, bem organizadas, com típico aspecto escavado.

Com quatro semanas ocorre a gametogênese. Os machos apresentam oito lóbulos testiculares, com espermatozóides visíveis nos dois ou três lobos anteriores. Os espermatozóides apresentam uma extremidade cefálica bulbar (8 x 2 μm) e um flagelo de 20 μm de comprimento. Por microscopia eletrônica de transmissão, verifica-se que os espermatozóides não têm um acrossoma e possuem poucas mitocôndrias, indiferenciadas, que se acumulam na parte anterior da cabeça. O flagelo começa no corpo basal, posterior e ligeiramente lateral ao núcleo, com o complexo axial do tipo 9 + 0 (Kitajima, Paraense & Corrêa, 1975).

A superfície do corpo é mais lisa, com o surgimento de organelas sensoriais, e na face dorsal aparecem protuberâncias (tubérculos) com espinhos. O tegumento tem 4 μm, um grande número de corpos membranosos e poucas mitocôndrias (McLaren, 1980). Nas fêmeas já há um pequeno ovário e o oótipo começa a se desenvolver.

Na quinta semana, os machos não mais apresentam modificações importantes no sistema reprodutor, isto é, canal ginecóforo e número definitivo de lobos testiculares. A superfície mais externa do tegumento que interage com o hospedeiro é formada por duas camadas lipídicas justapostas, enquanto a superfície basal interna é limitada por uma única membrana de camada dupla. A membrana externa tem aspecto heptalaminado e com invaginações. O tegumento conecta-se às células subtegumentares (cítons) por conexões citoplasmáticas ligadas por microtúbulos. Os cítons contêm núcleo, mitocôndrias, retículo endoplasmático, complexo de Golgi, corpos membranosos e corpos discóides (vesículas multilamelares), onde se fundem com a superfície mais externa.

O canal ginecóforo se forma quando as extremidades laterais do corpo dobram-se entre si, da direita para a esquerda ou vice-versa (Figura 5A). A superfície dorsal é coberta por numerosos tubérculos com espinhos, enquanto a superfície entre os tubérculos é composta por estrias rasas e planas (Figura 5D).

Nas fêmeas aparece a proteína da casca do ovo, e os folículos ovarianos se desenvolvem ao longo do corpo, posteriores ao ovário.

O aprimoramento de equipamentos de alta resolução tem permitido o estudo detalhado das características dos vermes adultos em espécimes vivos ou fixados. Para esse tipo de estudo, são feitas microscopia de campo claro, microscopia eletrônica de varredura, microscopia de varredura laser confocal e microscopia eletrônica de transmissão. Os vermes são fixados (por exemplo, em AFA – ácido acético, formalina e álcool), corados (carmim clorídrico alcoólico ou hematoxilina) e montados em lâminas

histológicas. Esta preparação é utilizada na microscopia de campo claro e no confocal, que fornece imagens seriadas dos espécimes. Assim, as técnicas se complementam e a lâmina pode ser depositada em coleções helmintológicas, para servir em estudos posteriores.

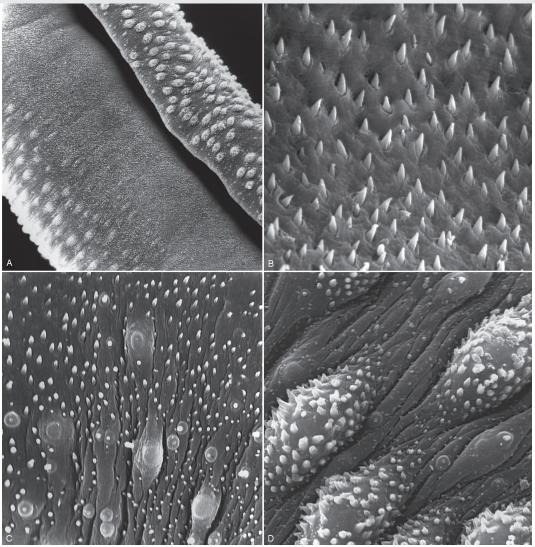
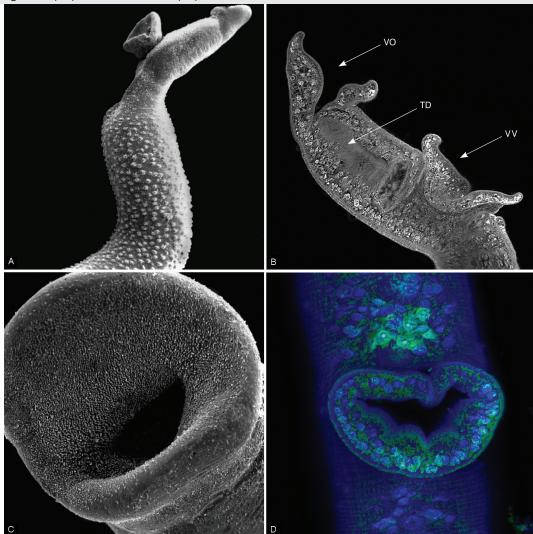
Figura 5 – Fotomicrografia por microscopia eletrônica de varredura do tegumento de *Schistosoma mansoni* (A, D) e interior do canal ginecóforo (B, C)

A morfologia dos vermes adultos foi estudada há quase cem anos, no Brasil (Pirajá da Silva, 1908). Os vermes machos apresentam o corpo esbranquiçado com comprimento médio de 10 mm. Na região anterior estão presentes a ventosa oral e a ventral (acetábulo), maior e mais proeminente (Figura 6D) do que a ventosa oral. A superfície entre as ventosas oral e ventral não apresenta tubérculos, espinhos e papilas sensoriais (Figura 6A). A ventosa oral ovalada apresenta três regiões bem distintas: uma inferior, mais larga, e outra posterior, ambas cobertas por espinhos, afilados, de tamanhos variados, e, ao fundo, a cavidade oral.

Figura 6 – Fotomicrografia por microscopia eletrônica de varredura (A, C) e microscopia de varredura laser confocal (B, D) da região anterior de vermes adultos machos de *Schistosoma mansoni*: ventosa oral (VO), tubo digestivo (TD) e ventosa ventral (VV)

A musculatura das ventosas é composta por músculos não somáticos. A contração dos músculos situados em posição meridional serve para abrir a ventosa, enquanto a contração das fibras equatoriais com os músculos radiais, situados entre as faces interna e externa, fecha a ventosa (Mair et al., 1998).

A borda superior da ventosa oral é composta por numerosos espinhos afilados e uma área isenta de espinhos (Figura 6C). A borda inferior apresenta espinhos e papilas sensoriais (não ciliadas), situadas em um local sem espinhos, onde o tegumento é poroso. A extremidade do acetábulo é constituída por duas áreas com espinhos e uma terceira porosa, sem espinhos, onde são evidenciadas algumas papilas sensoriais. Essas papilas estão dispostas entre as duas fileiras de espinhos (Machado-Silva, Lanfredi & Gomes, 1997).

À semelhança de outros trematódeos, o sistema digestivo dos vermes adultos se inicia com a boca localizada no fundo da ventosa oral, seguida por um esôfago curto (Figura 6B), que se bifurca à altura do acetábulo. Os dois cecos intestinais percorrem as margens laterais do corpo e no nível médio se unem em um ceco único, que termina em fundo de saco. A ventosa oral é, portanto, utilizada para a ingestão de alimentos e eliminação de materiais residuais do metabolismo. Morfologicamente, o sincício intestinal parece com uma estrutura metabolicamente ativa, com uma grande área superficial que é indicativa de função de absorção. A membrana é trilaminada, semelhante às células intestinais (Hockley, 1973).

O tubo digestivo é o sítio dos principais antígenos circulantes (anódico e catódico), produzidos pelos vermes. Em vermes marcados com anticorpos monoclonais contra os antígenos circulantes, por microscopia confocal, se verificou intensa marcação no ceco ramificado (Borges et al., 1994). No tubo digestivo são também encontradas peptidases que digerem as proteínas das hemácias do hospedeiro (Caffrey et al., 2004).

O sistema reprodutor é composto por seis a dez lóbulos testiculares, embora possam ser encontrados valores inferiores (três) e superiores (treze), situados logo abaixo da ventosa ventral. De cada lóbulo testicular sai um vaso eferente que se reúne em um canal deferente, desembocando na vesícula seminal, de onde sai o canal seminal (Figuras 7B, 7C) para o poro genital, pequeno e arredondado, situado no início do canal ginecóforo (Figura 7A). Entretanto, por microscopia de varredura laser confocal, verificou-se uma intercomunicação entre os lóbulos testiculares (Figura 7C), sem a participação do vaso eferente (Machado-Silva, et al., 1998). O poro genital fica do lado oposto ao que contém maior número de tubérculos da região dorsal.

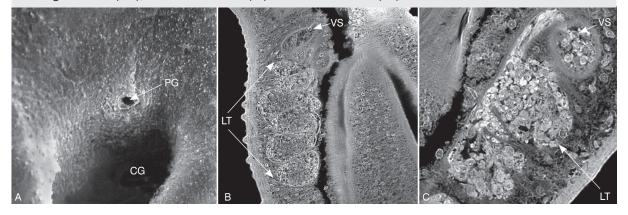
Figura 7 – Fotomicrografia por microscopia de varredura laser confocal da região anterior de vermes adultos machos de *Schistosoma mansoni*, com destaque para o sistema reprodutor: poro genital (PG), canal ginecóforo (CG), lobos testiculares (LT) e vesícula seminal (VS)

O canal ginecóforo alberga uma fêmea (Figura 9), ou excepcionalmente mais de uma ou mais um outro verme macho, caso o hospedeiro seja infectado apenas por espécimes do sexo masculino. O início do canal é caracterizado por apresentar poucos tubérculos, ausência de espinhos e tegumento poroso na área adjacente ao poro genital, mas sem receptores sensoriais. O interior do canal é constituído por espinhos mais afilados e outros pequenos, não pontiagudos, e papilas sensoriais, distribuídos desigualmente no interior do canal (Figuras 5B, 5C, vistas anteriormente). A região distal do canal apresenta papilas sensoriais ciliadas ou não (Figura 8A). A extremidade distal da região posterior do corpo não apresenta tubérculos nem espinhos, mas uma concavidade no tegumento, onde está localizado o poro excretor (Figura 8B).

Figura 8 – Fotomicrografia por microscopia eletrônica de varredura da extremidade posterior de vermes adultos machos de *Schistosoma mansoni*, com detalhes do canal ginecóforo (A) e o poro excretor (PE)

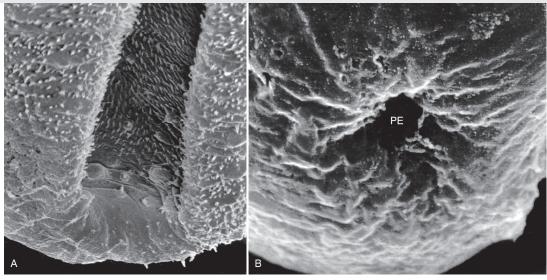



Figura 9 – Vermes adultos acasalados de *Schistosoma mansoni* corados por carmim clorídrico

O estudo detalhado do sistema excretor de vermes adultos não é possível com o emprego de microscopia de luz (Kastner et al., 1975). Essa dificuldade tem sido ultrapassada com o emprego de marcadores fluorescentes e anticorpos monoclonais, que permitem estudar detalhadamente o sistema excretor (Borges et al., 1994; Sato, Kusel & Thornhill, 2002; Wippersteg et al., 2003). O sistema protonefridial, semelhante ao descrito em cercárias, consiste de células em flama, de onde parte um conjunto de ramificações, que se unem em dois túbulos coletores limitados pelo epitélio. Após o final do tubo digestivo, os túbulos são visíveis e se unem em uma vesícula excretora, que se abre para o exterior pelo poro excretor ou nefridioporo, na extremidade distal do corpo (Machado-Silva, et al., 1998). O sistema de excreção tem algumas funções já conhecidas: ultrafiltração do fluido saindo do organismo para o meio externo e excreção ou absorção de diferentes matérias solúveis por transporte ativo. Admite-se que o papel das células em flama seja manter a pressão hidrostática, para assegurar a força propulsiva para a ultrafiltração (Bogers et al., 1994).

Estudos mais recentes indicam que o sistema excretor desempenha importante papel na relação parasito-hospedeiro, devido à identificação de moléculas de sinalização, como as fosfatases e as proteases, nesse sistema. Por intermédio de microscopia confocal, observou-se que a protease cisteína ER60 estava no epitélio excretor, sugerindo que possa estar envolvida com a invasão tecidual, degradação de macromoléculas ou processo de evasão da resposta imune (Wippersteg et al., 2003).

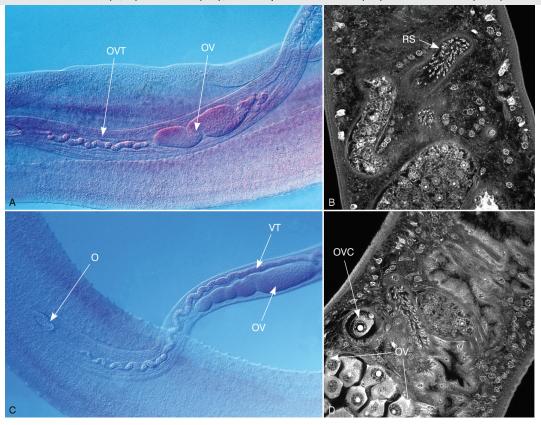
As fêmeas apresentam comprimento médio de 14 mm, duas pequenas ventosas, corpo filiforme; é mais escura do que os machos, com coloração castanho-escura devido à maior taxa de ingestão e quebra de hemoglobina em hemozoína (Oliveira et al., 2000). A topografia da superfície do corpo é mais simples do que a dos machos. A superfície inteira é escavada, com poucos espinhos presentes, principalmente, na extremidade posterior (McLaren, 1980).

O sistema reprodutor feminino é formado por um único ovário oblongo, na metade anterior do corpo (Figuras 10A, 10B, 10D). Por microscopia de campo claro, em lâminas montadas e coradas, o ovário contém células com diferentes dimensões. O estudo mais detalhado por microscopia laser confocal evidencia que as diferenças se devem à existência de ovócitos ou oócitos em diferentes estágios de maturação. Na parte mais estreita do ovário, os ovócitos são indiferenciados, com maturação progressiva à medida que se aproximam da saída pelo oviduto (Figura 10D). O oviduto possui um esfíncter denominado ovicaptor, que controla a passagem dos ovócitos – assim denominados por não terem completado a meiose – produzidos no ovário. Antes de se dirigir ao oótipo, o oviduto sofre um alargamento e forma o receptáculo seminal (espermateca), onde são armazenados os espermatozóides (Figura 10B).

As glândulas vitelogênicas ocupam os dois terços posteriores do corpo. As células vitelínicas de cada folículo apresentam diferentes estágios de desenvolvimento, desde pequenas células sem glóbulos da casca até outras com grandes glóbulos, com material precursor da casca do ovo. As células apresentam também diferenças na localização no interior dos folículos: as imaturas ficam na periferia e as maduras, na área central, de onde passam para o viteloduto ou ducto vitelínico (Fried & Graczyk, 1997). A maturação das células vitelínicas é classificada em quatro estágios:

- o núcleo é grande em relação ao tamanho da célula, com um grande nucléolo e grupos de ribossomos, complexo de Golgi e mitocôndrias;
- aumenta o volume citoplasmático, o tamanho e o número de ribossomos e o retículo endoplasmático torna-se proeminente;

- continua aumentando o volume do citoplasma em relação ao núcleo e ficam evidentes os glóbulos vitelínicos e o complexo de Golgi. As gotículas vitelínicas e os glóbulos variam em tamanho;
- o núcleo tem heterocromatina dispersa e grande nucléolo, com poros nucleares presentes na membrana nuclear. Existe uma quantidade abundante de grandes gotículas vitelínicas ao redor da periferia da célula, com evidência de gotículas de lipídeos, ribossomos e complexo de Golgi. É nessa fase que as células maduras se deslocam para o oviduto e chegam ao oótipo (Fried & Graczyk, 1997).

Figura 10 – Sistema reprodutor de vermes fêmeas de *Schistosoma mansoni*: contraste de interferência diferencial (A, C) do ovo (O), do ovário (OV), do oviduto (OVT) e do viteloduto (VT). Microscopia de varredura laser confocal (B, D) do ovário (OV), do receptáculo seminal (RS) e dos ovócitos (OVC)

O viteloduto também se dirige para a região anterior do corpo (Figura 10C), onde se une ao oviduto nas proximidades do oótipo, região denominada viteloduto-oviduto ciliado (LoVerde & Chen, 1991). O oótipo é uma câmara constituída por epitélio celular cuboidal, musculatura circular e longitudinal, cuja contração determina a forma da casca do ovo. Por microscopia de varredura de confocal a laser identificam-se ovos típicos, com espinho lateral, e outros em processo de formação da casca (Figuras 1A, 1B). O oótipo é circundado por um grupo de células glandulares unicelulares, a glândula de Mehlis (Erasmus, 1973). O lume da região posterior do oótipo recebe a secreção da glândula através de longos ductos, cuja membrana plasmática é conectada à membrana plasmática das células do oótipo por desmossomas septados (Erasmus, 1973). A glândula de Mehlis (também erroneamente conhecida como glândula da

casca, por atribuírem a ela a produção da casca do ovo) tem outras funções, como a formação de uma membrana em volta do ovócito, onde se deposita a substância formadora da casca (produzida, na verdade, pelas glândulas vitelogênicas), e o estímulo às células vitelínicas para produzirem a substância formadora da casca do ovo. A estabilização da casca do ovo se dá por um processo conhecido por tanificação, no qual a enzima profenolase promove a catalisação e posteriormente a oxidação do processo. Supõe-se também que a glândula de Mehlis forneça material que serve como molde para as gotículas da casca do ovo, durante a modelagem da cápsula (Fried & Graczyk, 1997). Estudos por citoquímica revelaram que na região do oótipo encontram-se partículas de glicogênio, secreções das glândulas de Mehlis e secreções produzidas pelo oótipo distal. Ao que parece, as glicoproteínas secretadas pelo oótipo distal funcionam como um agente lubrificante para a passagem do ovo no útero (Moczon, Swiderski & Huggel, 1992). A junção entre o oótipo e o útero é caracterizada pela presença de um esfíncter muscular (Erasmus, 1973). O útero é um canal com aspecto irregular, muscular, com uma camada citoplasmática externa, contendo uma variedade de corpos e mitocôndrias (Erasmus, 1973). Geralmente, o canal uterino contém um só ovo que alcança o exterior, através do poro genital situado abaixo da ventosa ventral.

Apesar de não se conhecer a causa, os vermes machos e fêmeas apresentam anormalidades no sistema genital. Além da distribuição normal dos lóbulos testiculares, diversos autores encontraram em suas pesquisas uma série de localização atípica, denominada testículos supranumerários (Najim, 1951; Travassos, 1953; Coles & Thurston, 1970; Soliman, Mansour & El-Assal, 1984; Machado-Silva et al., 1994, 1995; Neves et al., 1998). Outra anormalidade observada foi a ausência de lóbulos testiculares (agenesia testicular) em espécimes com aspecto normal do canal ginecóforo, do tegumento e dos tubérculos. Nas fêmeas se encontrou ovário atrofiado, 17 ovos uterinos com embrião em desenvolvimento e sistema digestivo com aspecto vacuolizado (Neves et al., 2003). O sistema reprodutivo dos vermes adultos pode apresentar modificações estruturais, provocadas pelo cultivo *in vitro* (Basch & Basch, 1982) por drogas não esquistossomicidas, destinadas a diminuir as taxas de colesterol do hospedeiro (Araújo et al., 2002) e a induzir diabetes melito (Hulstijn et al., 2003).

Estudo comparativo entre fêmeas maduras e de infecção unissexual demonstra que essas últimas são menores, com alterações no ovário, representadas principalmente pela incapacidade do complexo de Golgi para produzir grânulos corticais. Apesar das células da glândula de Mehlis apresentarem material secretor, os ductos da glândula não eliminam o seu conteúdo no oótipo, como nos vermes sexualmente maduros. Glândulas vitelínicas apresentam agrupamentos de células indiferenciadas, enquanto os ductos vitelínicos e o útero não têm nenhuma alteração morfológica, em comparação com as fêmeas acasaladas (Erasmus, 1973).

Após o acasalamento, as fêmeas sofrem modificações ultraestruturais e metabólicas, tais como a diferenciação celular com produção de células vitelínicas maduras, aumento da taxa de captação de tirosina, timidina e aumento do acúmulo de cálcio (Erasmus, 1986). O acasalamento é fundamental para a manutenção da maturidade sexual das fêmeas, incluindo-se a produção de ovos.

As relações fisiológicas existentes entre helmintos e hospedeiros são complexas e ainda não perfeitamente entendidas. Os vermes adultos completam o ciclo biológico em diversos hospedeiros: humanos, babuínos, hamsters, camundongos, ratos e coelhos, com os quais são estabelecidas interações que provocam diferenças nas características morfológicas, fisiológicas e comportamentais do helminto. Tais modificações podem ser evidenciadas quando o helminto se desenvolve em um hospedeiro não permissivo,

como o rato albino, onde os vermes são atrofiados, há retardo e desenvolvimento incompleto do tegumento com os tubérculos não apresentando espinhos (Senft, Gibler & Knopf, 1978). Quando esses espécimes são transplantados para um hospedeiro permissivo (hamster), aumentam de tamanho e se localizam nas veias mesentéricas. Nos vermes transplantados de camundongos para ratos, os espécimes regridem em tamanho, permanecem no fígado e produzem ovos com desenvolvimento incompleto (Cioli, Knopf & Senft, 1977). Esses estudos evidenciaram que as condições fisiológicas e reprodutivas dos vermes são influenciadas pelo hospedeiro.

Observações mais recentes ampliaram esse conhecimento. Desordens metabólicas do hospedeiro, como a desnutrição, têm acentuado efeito negativo sobre as características fenotípicas dos helmintos. Os vermes adultos são menores do que nos animais nutridos (Akpom, 1982; Magalhães et al., 1986; Oliveira et al., 2003), com diminuição da área, do diâmetro e do perímetro dos lóbulos testiculares (Oliveira et al., 2003; Neves et al., 2002). As fêmeas apresentam menores valores significativos na área da ventosa ventral, na área do ovário e na largura do ovo uterino (Oliveira et al., 2003). O estudo mais detalhado, por microscopia laser confocal, demonstra que o tegumento dos vermes desnutridos é menos espesso do que os normais, os tubérculos da superfície estão agrupados e achatados, enquanto a região subtegumentar aparece vacuolizada (Neves et al., 2001).

Os hormônios esteróides e da tireóide afetam o desenvolvimento (sobrevivência, crescimento e maturação sexual) do esquistossomo no hospedeiro. Camundongos com hipotireoidismo albergam vermes menores do que os encontrados nos animais com hipertireoidismo e, nestes, os vermes maturam antes e produzem mais ovos (Mendonça et al., 2000). Segundo essas pesquisas, hormônios como o estrogênio, a ecdisona e da tireóide modulam a expressão gênica via receptores nucleares específicos. O aumento da carga parasitária, com desenvolvimento de vermes bem maiores do que o tamanho normal, foi observado em camundongos tratados com tiroxina, enquanto nos alimentados com dieta deficiente em iodo há retardo na maturação dos vermes e redução na fecundidade (Saule et al., 2002). Os hormônios esteróides adrenais são dos mais importantes, controlando o início e o estabelecimento da infecção esquistossomótica em camundongos. Animais adrenelectomizados são mais suscetíveis à infecção, com aumento da carga parasitária e da contagem de ovos nas fezes, provavelmente por uma ação direta sobre o parasito ou pela regulação da resposta imune do hospedeiro (Morales-Montor, Mohamed & Damian, 2004).

A convivência de *S. mansoni* com o sistema imune do hospedeiro, desde longa data (Lenzi et al., 1997), desenvolveu uma relação de dependência do helminto para com as características do hospedeiro. Atualmente, não restam dúvidas de que o esquistossomo necessita da resposta imune do hospedeiro para o seu desenvolvimento (Davies & McKerrow, 2003). Diversas publicações demonstram que os vermes são pequenos, menos desenvolvidos, atrofiados nos animais com deficiência de interleucina 7 (IL-7) e células T e B (Wolowczuk et al., 1999; Viney, 2002). Relata-se também o retardo no desenvolvimento dos vermes e a pouca produção de ovos em animais imunodeficientes (Davies et al., 2002).

Há evidências de que os vermes em condições adversas produzem um fenótipo adaptativo (Viney, 2002; Simões et al., 2002). Esses fenótipos são também expressos quando se muda o hospedeiro do helminto, conforme verificado com uma cepa silvestre circulante em *N. squamipes*, mantida em condições de laboratório em *Mus musculus* (Machado-Silva et al., 1994; Neves et al., 1998). Da mesma forma, os vermes adultos de cepas mantidas em camundongos sofreram alterações morfológicas em *N. squamipes*. Nesse fenômeno, que é denominado plasticidade fenotípica, as mudanças ocorrem no sistema genital,

principalmente, dos vermes machos. A plasticidade fenotípica ocorre principalmente na primeira passagem do helminto pelas condições de laboratório (Neves et al., 2004).

Diversos experimentos indicam que o polimorfismo enzimático de populações naturais de *S. mansoni* reduz-se em condições de laboratório, devido à utilização de animais como o camundongo, que não é um hospedeiro natural. Uma amostra isolada de babuínos sofreu modificações no zimodemo, com rápido desaparecimento de alelos das enzimas glicose fosfato isomerase (GPI), malato-desidrogenase-1 (MDH) e fosfoglicomutase (PGM) (LoVerde et al., 1985). A freqüência do alelo Mdh-1 da enzima malato-desidrogenase aumentou nas cepas que normalmente infectam *Rattus rattus* (Brémond et al., 1993). Passagens sucessivas no laboratório também provocam modificações no padrão de isoenzimas, com redução do polimorfismo e seleção de alelos adaptativos (Navarro, Cesari & Incani, 1992). A redução de variabilidade foi confirmada entre populações de *S. mansoni* circulantes no campo e outras, mantidas por numerosas gerações em laboratório, através do emprego de diversos marcadores moleculares (Vieira et al., 1991; Pinto et al., 1997; Rodrigues et al., 2002).

Sem desconsiderar as limitações impostas pelos hospedeiros de laboratório, ainda na década de 50 numerosos conhecimentos foram se acumulando, com o emprego de camundongos (Brener, 1956, 1959). Foram demonstradas variações intra-específicas (cepas) entre populações simpátricas e alopátricas, com diferenças biológicas no período pré-patente (Andreson & Cheever, 1972; Fallon et al, 1997), infectividade (Bastos, Magalhães & Pareja, 1979), fecundidade (Warren, 1967; Kassim, Cheever & Richards, 1979; Costa & Katz, 1982; Costa, Roche & Katz, 1984; Conceição & Coura, 1986; Thiongo et al., 1997), patogenicidade (Magalhães, Alcântara & Carvalho, 1975; Andrade & Sadigursky, 1985; Yoshioka et al., 2002) e eliminação de ovos nas fezes (Yoshioka et al., 2002).

A cepa BH (Belo Horizonte, Minas Gerais) se diferencia da SJ (São José dos Campos, São Paulo) pelo maior tamanho das ventosas, por ter maiores ovos nas fezes (Paraense & Corrêa, 1981), vermes adultos maiores (Machado-Silva et al., 1995; Paraense & Corrêa, 1981; Magalhães & Carvalho, 1973) e maior número de lóbulos testiculares (Machado-Silva et al., 1995; Magalhães & Carvalho, 1973). Essas cepas se diferenciam da CMO (Ceará Mirim, Rio Grande do Norte) no comprimento dos vermes (SJ x CMO) e no número de lóbulos testiculares (BH x CMO). As três cepas foram menores do que outra, isolada e mantida em *N. squamipes* (Machado-Silva et al., 1995). Pelas características parasitológicas verificou-se que a cepa BH diferia de outras, da Venezuela, também mantidas por várias gerações em laboratório (Nino Incani, Morales & Cesari, 2001). Nesse experimento, os autores identificaram os aspectos que são determinados pelo parasito (período pré-patente, infectividade, proporção macho/fêmea) e pela constituição genética do hospedeiro (suscetibilidade, fecundidade e distribuição topográfica dos ovos).

Cepas simpátricas humana e silvestre (*N. squamipes)* também apresentaram diferenças morfométricas, nos caracteres do sistema reprodutor de vermes adultos (Neves et al., 1998). Estudo recente comprovou que a caracterização de cepas também pode ser realizada pela análise morfométrica dos vermes adultos provenientes de infecção unissexual (Machado-Silva et al., 2003). Todos esses resultados reforçam os achados de que as diferenças fenotípicas entre as cepas são expressas mesmo quando estas são mantidas por várias gerações em condições de laboratório (Martinez et al., 2003).

Em hospedeiros suscetíveis (camundongos, hamsters e babuínos, entre outros), o acasalamento dos vermes envolve duas etapas: a atração, que é controlada por lipídeos, em particular o colesterol; e o pareamento, que envolve o tigmotactismo (Tchuem Tchuenté et al., 1996). Contrariamente ao que se

conhecia, os vermes adultos não são monogâmicos, já que a troca de parceiros foi evidenciada entre espécies do gênero *Schistosoma* (Tchuem Tchuenté et al., 1996) e em *S. mansoni* (Pica-Mattoccia et al., 2000). Admite-se que essa troca contribua para a maior diversidade de material genético, com aumento das chances de adaptação e sobrevivência (Pica-Mattoccia et al., 2000).

A migração dos vermes da região hepática em direção aos vasos mesentéricos começa entre quatro e cinco semanas de infecção (Clegg, 1965). Ainda não se tem completo conhecimento sobre os fatores determinantes dessa migração para o sítio de oviposição. É provável que envolva a participação de produtos do metabolismo do hospedeiro, como a presença de sais biliares no soro portal, pois o soro desse local estimula mais a produção de ovos do que o soro retirado de outras regiões (Wu et al., 1985; Shaker et al., 1998; Badr et al., 1999). Pode ser que esse tropismo tenha relação com a filogenia, devido à especificidade do helminto para viver em um ambiente, como as veias porta e mesentéricas. Essa localização parece ser a ideal para que o helminto adquira seus nutrientes, à medida que o sangue do intestino delgado vai para o fígado, para detoxicação, após a digestão e a absorção de alimentos (Shaker et al., 1998; Modha et al., 1998). O fato é que roedores e primatas apresentam diferentes sítios de oviposição. Em roedores, a preferência é pelo intestino delgado, em geral pelo jejuno (Martinez et al., 2003; Machado-Silva et al., 1991; Wu et al., 1985), enquanto nos primatas é pelo intestino grosso (Nyindo & Farah, 1999).

Os estudos *in vitro* indicaram que o soro portal de diferentes mamíferos, permissivos ou não permissivos, estimula a oviposição, embora esta seja menor no rato, equivalente no soro humano e no de coelho, com o máximo ocorrendo em hamsters (Wu et al., 1985). Os vermes cultivados *in vitro* apresentam três fases na cinética de oviposição: pequena produção inicial, máxima produção e redução progressiva, durante as fases finais do cultivo (Barth, Fernandes & Rodrigues, 1996). Possivelmente, essa redução está relacionada com alterações no sistema reprodutivo das fêmeas. Os estudos *in vitro* confirmam que existe uma grande variabilidade na oviposição, relacionada com a idade dos vermes, a cepa e o hospedeiro de origem dos vermes (El Ridi et al., 1997).

Ao que parece, não há associação entre a fonte do soro portal e a postura de ovos. Os experimentos *in vivo* demonstram que não ocorre postura de ovos no coelho (Pinto et al., 1990), que tem o mesmo potencial para estimular a oviposição *in vitro* (Wu et al., 1985). Estudos realizados em roedores demonstram que a cinética de oviposição também é composta por três fases (Ribeiro-Paes & Rodrigues, 1997; Fallon et al., 1997; Thiongo et al., 1997; Souza et al., 1992; Rocha et al., 1995). Em camundongos esquistossomóticos, a concomitância de diabetes melito afeta a cinética de eliminação de ovos nas fezes, possivelmente por dificuldade de maturação (Hulstijin et al., 2001).

PERSPECTIVAS

A aplicação de novas ferramentas moleculares poderá contribuir no estudo taxonômico de *S. mansoni*, o que poderá resultar na descrição de novas espécies ou inclusão como sinonímias. Novas técnicas de microscopia com maior poder de resolução e o desenvolvimento de marcadores poderão contribuir para o avanço no conhecimento mais detalhado da morfologia em várias fases do ciclo biológico de *S. mansoni*. O estudo da expressão de proteínas por meio da análise proteômica nestas diversas fases do ciclo biológico deverá facilitar o entendimento da biologia, do processo evolutivo e da relação parasito-hospedeiro.

REFERÊNCIAS

AKPOM, C. A. Schistosomiasis. Nutritional implications. *Reviews of Infectious Diseases*, 4: 776-782, 1982.

AL-ADHAMI, B. H. et al. The properties of acidic compartments in developing schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 127: 253-264, 2003.

ANDERSON, L. A. & CHEEVER, A. W. Comparison of geographical strains of *Schistosoma mansoni* in the mouse. *Bulletin of the World Health Organization*, 46: 233-242, 1972.

ANDRADE, Z. A. & SADIGURSKY, M. Um estudo comparativo das cepas de Feira de Santana (Bahia) e Porto Rico do *Schistosoma mansoni* na infecção experimental do camundongo. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 80: 37-40, 1985.

ARAÚJO, N. et al. *Schistosoma mansoni*: ação da lovastatina no modelo murino. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 35(1): 35-38, 2002.

ASHTON, P. D. et al. The schistosome egg: development and secretions. *Parasitology*, 122: 329-338, 2001.

BADR, S. G. E. Effect of bile salts on oviposition in vitro by *Schistosoma mansoni*. *Parasitology Research*, 85: 421-423, 1999.

BARBOSA, M. A. Quantitayive aspects of the migration and evolutive asynchronism of *Schistosoma mansoni* in mice. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 20: 121-132, 1978.

BARKER, S. C. & BLAIR, D. Molecular phylogeny of *Schistosoma* species supports traditional groupings within the genus. *The Journal of Parasitology*, 82(2): 292-298, 1996.

BARTH, L. R.; FERNANDES, A. P. M. & RODRIGUES, V. Oviposition by *Schistosoma mansoni* during *in vitro* cultivation. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 38(6): 325-329, 1996.

BASCH, P. F. Why do Schistosomes have separete sexes? *Parasitology Today*, 6: 160-163, 1990.

BASCH, P. F. *Schistosomes: development, reproduction, and host relations*. Oxford: University Press, 1991.

BASCH, P. F. & BASCH, N. *Schistosoma mansoni*: scanning electron microscopy of schistosomula, adults and eggs grown *in vitro*. *Parasitology*, 85: 333-338, 1982.

BASTOS, O. C.; MAGALHÃES, L. A. & PAREJA, G. B. Estudo da infecção esquistossomótica produzida pelas linhagens humana e silvestre do Vale do Rio Paraíba do Sul, SP (Brasil), em camundongos isogênicos. *Revista de Saúde Pública*, 13: 335-340, 1979.

BAYNE, C. J. & GREVELDING, C. G. Cloning of *Schistosoma mansoni* sporocysts in vitro and detection of genetic heterogeneity among individuals within clones. *The Journal of Parasitology,* 89: 1.056-1.060, 2003.

BAYSSADE-DUFOUR, C. Differences in the sensilla of African and American cercaria of *Schistosoma mansoni*, the agent of human intestinal bilharziasis. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences. Série D*, 284: 191-193, 1977.

BAYSSADE-DUFOUR, C. Variations du système sensoriel de la cercariae de *Schistosoma mansoni*. Intéret éventuel en épidemiologie. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 54: 593-614, 1979.

BOGÉA, T. et al. Circadian pattern of cercarial emergence in *Schistosoma mansoni* (Platyhelminthes: Digenea) from isolated *Biomphalaria glabrata*. *Chronobiology International*, 13: 93-101, 1996.

BOGERS, J. J. et al. Immunofluorescent visualization of the excretory and gut system of *Schistosoma mansoni* by confocal laser scanning microscopy. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 50: 612-619, 1994.

BOISSIER, J. & MONÉ, H. Experimental observations on the sex ratio of adult *Schistosoma mansoni*, with comments on the natural male bias. *Parasitology*, 121: 379-383, 2000.

BOISSIER, J.; DURAND, P. & MONÉ, H. PCR effectiveness for sexing *Schistosoma mansoni* cercariae: application for sexing clonal cercarial populations. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 112: 139-141, 2001.

BOISSIER, J.; MORAND, S. & MONÉ, H. A review of performance and pathogenicity of male and female *Schistosoma mansoni* during the life-cycle. *Parasitology*, 119: 447-454, 1999.

BONT, J. D. & VERCRUYSSE, J. Schistosomiasis in cattle. *Advances in Parasitology*, 41: 285-364, 1998.

BOUCHET, F. et al. First recovery of *Schistosoma mansoni* eggs from a latrine in Europe (15-16th Centuries). *The Journal of Parasitology*, 88: 404-405, 2002.

BOYLE, J. P.; ZAIDE, J. V. & YOSHINO, T. P. *Schistosoma mansoni*: effects of serotonin and serotonin receptor antagonists on motility and length of primary sporocysts in vitro. *Experimental Parasitology*, 94: 217-226, 2000.

BOYLE, J. P. et al. Using RNA interference to manipulate endogenous gene expression in *Schistosoma mansoni* sporocysts. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 128: 205-215, 2003.

BRÉMOND, P. et al. Experimental host-induced selection in *Schistosoma mansoni* strains from Guadaloupe and comparison with natural observations. *Heredity*, 70: 33-37, 1993.

BRENER, Z. Observações sobre a infecção do camundongo pelo *Schistosoma mansoni*. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 8: 565-575, 1956.

BRENER, Z. Esquistossomose experimental. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais,* 11: 473-506, 1959.

BRUSCA, R. C. & BRUSCA, G. J. *Invertebrates*. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc., Publishers Sunderland, 1990.

CAFFREY, C. R. et al. Blood 'n' guts: an update on schistosome digestive peptidases. *Trends Parasitology*, 20(5): 241-248, 2004.

CARNEIRO-SANTOS, P. et al. Acidic vesicles of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology Research*, 87: 1.001-1.006, 2001.

CASSONE, J.; ALBARET, J. L. & JOURDANE, J. L' 'Indice cercarien' de *Schistosoma mansoni*. Données expérimentales et épidémiologiques. *Annales de Parasitologie*, 56: 381-394, 1981.

CIOLI, D.; KNOPF, P. M. & SENFT, A. W. A study of *Schistosoma mansoni* transferred into permissive and nonpermissive hosts. *International Journal for Parasitology*, 7: 293-297, 1977.

CLEGG, J. A. In vitro cultivation of *Schistosoma mansoni*. *Experimental Parasitology*, 16: 133-147, 1965.

COLES, G. C. & THURSTON, J. P. Testes number in east African *Schistosoma mansoni*. *Journal of Helminthology*, 44: 69-73, 1970.

COMBES, C. Where do human schistosomes come from? An evolutionary approach. *TREE*, 5: 334-337, 1990.

COMBES, C. & MONÉ, H. Possible mechanisms of the decoy effect in *Schistosoma mansoni* transmission. *International Journal for Parasitology*, 17(4): 971-975, 1987.

COMITÉ OMS. D'experts de la lutte contre schistosomiase. Lutte contre la schistosomiase: deuxieme rapport du Comité OMS d'experts. (OMS, Série de rappotrs techniques; 830). Geneve: Organization Mondiale de la Santé, 1993.

CONCEIÇÃO, M. J. & COURA, J. R. Comportamento experimental de amostras de *Schistosoma mansoni* em relação às formas clínicas de esquistossomose. I – estudo em camundongos. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 81: 61-66, 1986.

COSTA, M. F. F. L. & KATZ, N. Comparative studies of *Schistosoma mansoni* strains isolated from patientes with toxemic or intestinal forms of Schistossomiasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 31: 499-504, 1982.

COSTA, M. F. F. L.; ROCHE, R. S. & KATZ, N. Comparative study of *Schistosoma mansoni* isolated from patients with hepatosplenic and intestinal clinical forms of schistosomiasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 33: 918-923, 1984.

CUNHA, A. S. *Esquistossomose Mansônica.* São Paulo: Edusp, 1970.

CURWEN, R. S. & WILSON, R. A. Invasion of skin by schistosome cercariae: some neglected facts. *Trends Parasitology*, 19: 63-66, 2003.

D'ANDREA, P. S. et al. Experimental evidence and ecological perspectives for the adaptation of *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 (Digenea: Schistosomatidae) to a wild host, the water-rat, *Nectomys squamipes* Brants, 1827 (Rodentia: Sigmodontinae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97: 11-14, 2002.

DAVIES, S. J. & MCKERROW, J. H. Developmental plasticity in schistosomes and other helminths. *International Journal for Parasitology*, 33: 1.277-1.284, 2003.

DAVIES, S. J. et al. Modulation of blood fluke development in the liver by hepatic $CD4^+$ lymphocytes. *Science*, 294: 1.358-1.361, 2001.

DESPRÈS, L.; IMBERT-ESTABLET, D. & MONNEROT, M. Molecular characterization of mitochondrial DNA provides evidence of recent introduction of *Schistosoma mansoni* into America. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 60: 221-230, 1993.

DIAS, L. C. S. & RIBEIRO, O. B. *Schistosoma mansoni*: eggs with two miracidia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 74: 826, 1980.

DORSEY, C. H. et al. Ultrastructure of the *Schistosoma mansoni* cercaria. *Micron*, 33: 279-323, 2002.

EKLU-NATEY, D. T. et al. Comparative scanning electron microscope (SEM) study of miracidia of four human schistosome species. *International Journal for Parasitology*, 15: 33-42, 1985.

EL RIDI, R. *Schistosoma mansoni* oviposition *in vitro* reflects worm fecundity *in vivo*: individual, parasite age and host dependent variations. *International Journal for Parasitology*, 27(4): 381-387, 1997.

ERASMUS, D. A. A comparative study of the reproductive system of mature, mmature and "unisexual" female *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 67: 165-183, 1973.

ERASMUS, D. A. Structural and metabolic changes in female *Schistosoma mansoni* following male stimulation. *Journal of Chemical Ecology*, 12: 1755-1764, 1986.

FALLON, P. G. et al. *Schistosoma mansoni*: Maturation rate and drug susceptibility of different geographic isolates. *Experimental Parasitology*, 86: 29-36, 1997.

FOURNIER, A. & THÉRON, A. Sectorisation morpho-anatomique et fonctionnelle du sporocyste-fils de *Schistosoma mansoni*. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 71: 325-336, 1985.

FREIRE, N. et al. Cercarial chaetotaxy and sex differentiation of *Schistosoma mansoni* deriving from humans and *Nectomys squamipes* (Muridae: Sigmondontinae) in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97: 127-132, 2002.

FRIED, B. *An overview of the biology of trematodes.* In: FRIED, B. & GRACZYK, T. K. *Advances in Trematode Biology*. New York, Boca Raton: CRC Press, 1997.

GASSER, R. B.; MORAHAN, G. & MITCHELL, G. F. Sexing single larval stages of *Schistosoma mansoni* by polymerase chain reaction. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 47 (2): 255-258, 1991.

GIBSON, D. I.; JONES, A. & BRAY, R. A. *Keys to the Trematoda.* London: Cabi Publishing, The Natural History Museum, 2002. v. 1.

GILBERT, B. et al. *Schistosoma mansoni*: *in vitro* transformation of cercaria into schistosomula. *Parasitology*, 64: 333-339, 1972.

GRABE, K. & HAAS, W. Navigation within host tissues: cercariae orientate towards dark after penetration. *Parasitology Research*, 93: 111-113, 2004a.

GRABE, K. & HAAS, W. Navigation within host tissues: *Schistosoma mansoni* and Trichobilharzia ocellata schistosomula respond to chemical gradients. *International Journal for Parasitology*, 34: 927-934, 2004b.

GREVELDING, C. G. The female-specific W1 sequence of the Puerto Rican strain of *Schistosoma mansoni* occurs in both genders of a Liberian strain. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 71 (2): 269-272, 1995.

GREVELDING, C. G.; SOMMER, G. & KUNZ, W. Female-specific gene expression in *Schistosoma mansoni* is regulated by pairing. *Parasitology*, 115(6): 635-640, 1997.

HAAS, W. Cercaricida effect of 2-tetradecenoic acid, a penetration stimulant. *Experimental Parasitology*, 58: 215-222, 1984.

HAAS, W. et al. Finding and recognition of the snail intermediate hosts by 3 species of echinostome cercariae. *Parasitology*, 110: 133-142, 1995.

HAAS, W. et al. *Schistosoma mansoni* cercariae: stimulation of acetabular gland secretion is adapted to the chemical composition of mammalian skin. *The Journal of Parasitology*, 83: 1079-1085, 1997.

HAAS, W. et al. Recognition and invasion of human skin by *Schistosoma mansoni* cercariae: the key-role of L-arginine. *Parasitology*, 124(2): 153-167, 2002.

HASSAN, A. H. M. et al. Miracidia of an Egyptian strain of *Schistosoma mansoni* differentiate between sympatric snail species. *The Journal of Parasitology*, 89: 1248-1250, 2003.

HERNANDEZ, D. C. et al. *Schistosoma mansoni*: sex-specific modulation of parasite growth by host immune signals. *Experimental Parasitology*, 106: 59-61, 2004.

HOCKLEY, D. J. Ultrastructure of the tegument of *Schistosoma mansoni*. *Advances in Parasitology*, 11: 233-305, 1973.

HOCKLEY, D. J. & MCLAREN, D. J. *Schistosoma mansoni*: changes in the outer membrane of the tegument during development from cercaria to adult worm. *International Journal for Parasitology*, 3(1): 13-25, 1973.

HOFFMAN, K. F. et al. The guanine protein coupled receptor rhodopsin is developmentally regulated in the free-living stages of *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 112: 113-123, 2001.

HULSTIJN, M. et al. Lower faecal egg excretion in chemically-induced diabetic mice infected with *Schistosoma mansoni* due to impaired egg maturation. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 391-393, 2001.

HULSTIJN, M. et al. Morphological changes in the reproductive organs of male and female *Schistosoma mansoni* worms caused by streptozotocin, a drug used to induce diabetes mellitus. *Parasitology*, 126: 53-61, 2003.

INCANI, R. N.; MORALES, G. & CESARI, I. Parasite and vertebrate host genetic heterogeneity determine the outcome of infection by *Schistosoma mansoni*. *Parasitology Research*, 87: 131-137, 2001.

KALBE, M. et al. Heredity of specific host-finding behaviour in *Schistosoma mansoni* miracidia. *Parasitology*, 128: 635-643, 2004.

KASSIM, O. O.; CHEEVER, A. W. & RICHARDS, C. S. *Schistosoma mansoni*: mice infected with different worm strains. *Experimental Parasitology*, 48: 220-224, 1979.

KASTNER, M. R. Q. et al. Estudo morfológico de *S. mansoni* Sambon, 1907 encontrado na espécie humana. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 9: 247-261, 1975.

KITAJIMA, E. W.; PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. The fine structure of *Schistosoma mansoni* sperm (Trematoda: Digenea). *The Journal of Parasitology*, 62: 215-221, 1975.

KUNZ, W. Schistosome male-female interaction: induction of germ-cell differentiation. *Trends Parasitology*, 17: 227-231, 2001.

KUNZ, W. et al. *Schistosoma mansoni*: control of female fertility by the male. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90: 185-189, 1995.

LAWSON, J. R. & WILSON, R. A. The survival of the cercariae of *Schistosoma mansoni* in relation to water temperature and glycogen utilization. *Parasitology*, 81: 337-348, 1980.

LAWSON, J. R. & WILSON, R. A. The relationship between the age of *Schistosoma mansoni* cercariae and their ability to penetrate and infect the mammalian host. *Parasitology*, 87(3): 481-492, 1983.

LENZI, H. L. et al. Immunological system and *Schistosoma mansoni*: co-evolutionary immunobiology. What is the eosinophil role in parasite-host relationship? *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92: 19-32, 1997.

LIBERATOS, J. D. *Schistosoma mansoni*: male-biased sex ratios in snails mice. *Experimental Parasitology*, 64: 165-177, 1987.

LOCKER, A. E. et al. The phylogeny of the Schistosomatidae based on three genes with emphasis on the interrelationships of Schistosoma Weinland, 1858. *Parasitology*, 126: 203-224, 2003.

LOVERDE, P. T. & CHEN, L. Schistosome female reproductive development. *Parasitology Today*, 7: 303-308, 1991.

LOVERDE, P. T. et al. Evidence for host-induced selection in *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology*, 71: 297-301, 1985.

MACHADO-SILVA, J. R. *Observações Sobre a Evolução de Diferentes Amostras de* Schistosoma mansoni *em* Biomphalaria glabrata *e* Mus musculus, 1981. Dissertação de Mestrado, Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz.

MACHADO-SILVA, J. R.; LANFREDI, R. M. & GOMES, D. C. Morphological study of adult male worms of *Schistosoma mansoni* by scanning electron microscopy. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92: 647-653, 1997.

MACHADO-SILVA, J. R. et al. Roedores silvestres como modelos experimentais da equistossomose mansônica: *Akodon arviculoides* (Rodentia; Cricetidae). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 33: 257-261, 1991.

MACHADO-SILVA, J. R. et al. *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907: comparative morphological studies of some brazilian strains. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 37: 441-447, 1995.

MACHADO-SILVA, J. R. et al. Host-induced morphological changes of *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 male worms. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 89: 411-416, 1994.

MACHADO-SILVA, J. R. et al. Morphological study of adult male worms of *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 by confocal laser scanning microscopy. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93: 303-307, 1998.

MACHADO-SILVA, J. R. et al. Differences in Brazilian strains of *Schistosoma mansoni* evaluated by means of morphometric analysis of cercariae of both sexes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95: 839-842, 2000.

MACHADO-SILVA, J. R. et al. Caracterização de cepas de *Schistosoma mansoni* por morfometria de vermes adultos provenientes de infecção unissexual. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 36: 755-757, 2003.

MAGALHÃES, L. A. & CARVALHO, J. F. Estudo morfológico de *Schistosoma mansoni* pertencentes a linhagens de Belo Horizonte (MG) e São José dos Campos (SP). *Revista de Saúde Pública*, 7: 289-294, 1973.

MAGALHÃES, L. A.; ALCÂNTARA, F. G. & CARVALHO, J. F. Alguns dados referentes ao estudo parasitológico e anatomopatológico de duas linhagens de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. *Revista de Saúde Pública*, 9: 1-5, 1975.

MAGALHÃES, L. A.; ZANOTTI-MAGALHÃES, E. M. & CARVALHO, J. F. Observations on the miraxonal attraction exercised by sexually immature or adult *Biomphalaria glabrata* infected or not by *Schistosoma mansoni*. *Revista de Saúde Pública*, 31: 121-124, 1997.

MAGALHÃES, L. A. et al. Schistosomiasis mansoni in experimentally malnourished mice. *Revista de Saúde Pública*, 20: 362-368, 1986.

MAIR, G. R. et al. Muscling in on parasitic flatworms. *Parasitology Today*, 14: 73-76, 1998.

MAIR, G. R. et al. Organization of the musculature of schistosome cercariae. *The Journal of Parasitology*, 89: 623-625, 2003.

MARTINEZ, E. M. et al. Características morfológicas e biológicas de cepas brasileiras de *Schistosoma mansoni* em *Mus musculus*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 36(5): 557-564, 2003.

MATSUYAMA, H. et al. The involvement of cyclic adenosine monophosphate in the control of schistosome miracidium ciclia. *The Journal of Parasitology*, 90: 8-14, 2004.

MCKERROW, J. H. & SALTER, J. Invasion of skin by *Schistosoma* cercariae. *Trends Parasitology*, 18(5): 193-195, 2002.

MCKERROW, J. J. Invasion of skin by schistosome cercariae: some neglected facts. *Trends Parasitology*, 19: 66-68, 2003.

MCLAREN, D. J. Schistosoma mansoni: *the parasite surface in relation to host immunity*. Letchworth: Research Studies Press, 1980.

MENDONÇA, R. L. et al. Hormones and nuclear receptors in schistosome development. *Parasitology Today*, 16: 233-240, 2000.

MICHEL, A.; KNOBLOCH, J. & KUNZ, W. P19: a female and tissue specifically expressed gene in *Schistosoma mansoni*, regulated by pairing with the male. *Parasitology*, 127: 519-524, 2003.

MOCZON, T.; SWIDERSKI, Z. & HUGGEL, H. *Schistosoma mansoni*: the chemical nature of the secretions produced by the mehlis' gland and ootype as revealed by cytochemical studies. *International Journal for Parasitology*, 22: 65-73, 1992.

MODHA, J. et al. Schistosomes: unanswered questions on the basic biology of the host-parasite relationship. *Parasitology Today*, 14: 396-401, 1998.

MORALES-MONTOR, J.; MOHAMED, F. & DAMIAN, R. T. *Schistosoma mansoni*: the effect of adrenalectomy on the murine model. *Microbes and Infection*, 6: 475-480, 2004.

MORAND, S. & MÜLLER-GRAF, C. D. M. Muscles or testes? Comparative evidence for sexual competition among dioecious blood parasites (Schistosomatidae) of vertebrates. *Parasitology*, 120: 45-56, 2000.

MORGAN, J. A. T. et al. *Schistosoma mansoni* and *Biomphalaria*: past history and future trends. *Parasitology*, 123, supl. 1: S211-S228, 2001.

NAJIM, A. T. A male *Schistosoma mansoni* with two sets of testes. *The Journal of Parasitology*, 37: 545-546, 1951.

NAVARRO, M. C.; CESARI, I. M. & INCANI, R. N. Isoenzyme studies in one Brazilian and two Venezuelan strains of *Schistosoma mansoni*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 102B: 471-474, 1992.

NEILL, P. J. G. et al. The ultrastructure of the *Schistosoma mansoni* egg. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 39: 52-65, 1988.

NEVES, R. H. et al. Morphometric differences of adult worms from sympatric samples of *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 isolated from rodents and humans. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93: 309-312, 1998.

NEVES, R. H. et al. Morphological aspects of *Schistosoma mansoni* adult worms isolated from nourished and undernourished mice: a comparative analysis by confocal laser scanning microscopy. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 1.013-1.016, 2001.

NEVES, R. H. et al. Phenotypic characterization of *Schistosoma mansoni* adult worms recovered from undernourished mice: a morphometric study focusing on the reproductive system. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 35: 405-407, 2002.

NEVES, R. H. et al. Reproductive system abnormalities in *Schistosoma mansoni* adult worms isolated from *Nectomys squamipes* (Muridae: Sigmodontinae): brightfield and confocal laser scanning microscopy analysis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 98: 361-365, 2003.

NEVES, R. H. et al. Phenotypic plasticity in adult worms of *Schistosoma mansoni* (Trematoda: Schistosomatidae) evidenced by brighfield and confocal laser scanning microscopies. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99: 131-136, 2004.

NYINDO, M. & FARAH, I. O. The baboon as a non-human primate model of human schistosome infection. *Parasitology Today*, 15: 478-482, 1999.

OLIVEIRA, A. S. et al. Morphometric study of *Schistosoma mansoni* adult worms recovered from undernourished infected mice. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 98: 623-627, 2003.

OLIVEIRA, M. F. et al. Haemozoin in *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 111: 217-221, 2000.

OLSON, P. D. et al. Phylogeny and classification of the digenea (Platyhelminthes: Trematoda). *International Journal for Parasitology*, 33: 733-755, 2003.

PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. Observations on two biological races of *Schistosoma mansoni*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 76: 287-291, 1981.

PELLEGRINO, J. & MARIA, M. Results exposing mice to natural pond water harboring a colony of *Australorbis glabratus* highly infected with *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 15: 333-336, 1966.

PICA-MATTOCCIA, L. et al. Changes of mate occur in *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 120: 495-500, 2000.

PINO, L. A. & MORALES, G. Análisis discriminante y diferenciación de sexos de *Schistosoma mansoni* a nivel del estadio cercaria. *Revista Ibérica de Parasitología*, 50: 233-240, 1990.

PINO, L. A. et al. La quetotaxia cercariana en la diferenciacion de sexos de *Schistosoma mansoni*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 83: 367-374, 1988.

PINTO, P. M. et al. Contrasting genomic varability between clones from field isolates and laboratory populations of *Schistosoma mansoni*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92: 409-414, 1997.

PINTO, R. M. et al. Autoradiographic analysis of *Schistosoma mansoni* migration in the NZ rabbit. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 85(1): 91-94, 1990.

PIRAJÁ DA SILVA, M. A. Contribuição para o estudo da schistosomiase na Bahia. *Brazil Médico*, 22: 281-283, 1908.

PLATT, T. R. & BROOKS, D. R. Evolution of the schistosomes (Digenea: Schistosomatoidea): the origin of dioecy and colonization of the venous system. *The Journal of Parasitology*, 83: 1.035-1.044, 1997.

POPIEL, I. Male-stimulated female maturation in *Schistosoma*: a review. *Journal of Chemical Ecology*, 12: 1.745-1.754, 1986.

RACE, G. J. et al. Scanning and transmission electronmicroscopy of *Schistosoma mansoni* eggs, cercariae, and adults. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 20: 914-924, 1971.

RAGHUNATHAN, L. & BRUCKNER, D. Identification of sex in *Schistosoma mansoni* cercariae. *The Journal of Parasitology*, 61: 66-68, 1975.

RAMALHO-PINTO, R. J. et al. Factors affecting surface changes in intact cercariae bodies of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 71: 12-25, 1975.

REY, L. *Parasitologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

REY, L. *Dicionário de Termos Técnicos de Medicina e Saúde*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

RIBEIRO-PAES, J. T. & RODRIGUES, V. Sex determination and female reproductive development in the genus *Schistosoma*: a review. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 39: 337-344, 1997.

ROCHA, R. L. et al. Egg excretion in the initial phase of experimental murine schistossomiasis mansoni: stability and association with worm burden. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 37: 325-329, 1995.

RODRIGUES, N. B. et al. Population structure assessed of *Schistosoma mansoni* by DNA microsatellites. *International Journal for Parasitology*, 32: 843-851, 2002.

SATO, H.; KUSEL, J. R. & THORNHILL, J. Functional visualization of the excretory system of adult *Schistosoma mansoni* by the fluorescent marker resorufin. *Parasitology*, 125: 527-535, 2002.

SAULE, P. et al. Early variatios of host thyroxine and interleukin-7 favor *Schistosoma mansoni* development. *The Journal of Parasitology*, 88: 849-855, 2002.

SENFT, A. W.; GIBLER, W. B. & KNOPF, P. M. Scanning electron microscope observations on tegument maturation in *Schistosoma mansoni* grown in permissive and non-permissive hosts. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 27: 258-266, 1978.

SHAKER, Y. M. et al. Human portal serum stimulates cell proliferation in immature *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 117: 293-299, 1998.

SHORT, R. B. & CARTRETT, M. L. Argentophilic 'papillae' of *Schistosoma mansoni* cercariae. *The Journal of Parasitology*, 59: 1041-1059, 1973.

SIMÕES, C. et al. Parasitological characteristics of *Schistosoma mansoni* infection in Swiss mice with underlying malnutrition. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97, supl. 1: 143-147, 2002.

SKELLY, P. J. & SHOEMAKER, C. B. Induction cues for tegument formation during the transformation of *Schistosoma mansoni* cercariae. *International Journal for Parasitology*, 30: 625-631, 2000.

SNYDER, S. D. & LOKER, E. S. Evolutionary relationships among the Schistosomatidae (Platyhelminthes:Digenea) and an Asian origin for Schistosoma. *The Journal of Parasitology*, 86 (2): 283-288, 2000.

SOLIMAN, G. N.; MANSOUR, N. S. & EL-ASSAL, F. M. On the infra specific variations in the frequency of supernumerary testes in *Schistosoma mansoni*. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 70(4): 561-564, 1984.

SOUTHGATE, V. R.; JOURDANE, J. & TCHUENTÉ, L. A. T. Recent studies on the reproductive biology of the schistosomes and their relevance to speciation in the Digenea. *International Journal for Parasitology*, 28: 1.159-1.172, 1998.

SOUZA, C. P. et al. Influence of temperature on development of *Schistosoma mansoni* female cercariae in *Biomphalaria glabrata*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 37: 319-324, 1995.

SOUZA, V. A. et al. *Nectomys squamipes* (Rodentia: Cricetidae) as an experimental model for Schistosomiasis mansoni. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87, supl. 1: 277-280, 1992.

SPOTILA, L. D. et al. A cloned DNA probe identifies the sex of *Schistosoma mansoni* cercariae. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 26(1-2): 17-20, 1987.

STIREWALT, M. A. *Schistosoma mansoni*: cercaria to schistosomule. *Advances in Parasitology*, 12: 115-182, 1974.

TCHUEM TCHUENTÉ, L. A. et al. Mating behaviour in schistosomes: are paired worms alwalys faithful? *Parasitology Today*, 12(6): 231-236, 1996.

THÉRON, A. Early and late shedding patterns of *Schistosoma mansoni* cercariae: ecological significance in transmission to human and murine hosts. *The Journal of Parasitology*, 70(5): 652-655, 1984.

THÉRON, A. Polymorphisme des oeufs de *Schistosoma mansoni* dans le foyer Guadeloupéen (Antilles Françaises): présence de "*S. rodhaini*-like" parasites? *Acta Tropica*, 43: 335-342, 1986.

THÉRON, A. Hybrids between *Schistosoma mansoni* and *S. rodhaini*: characterization by cercarial emergence rhythms. *Parasitology*, 99: 225-228, 1989.

THÉRON, A.; MOUAHID, G. & MONÉ, H. *Schistosoma mansoni*: cercarial shedding patterns from a mixed infection of *Biomphalaria glabrata* with two (early and late) chronobiological variants. *Parasitology Research*, 83: 356-358, 1997.

THÉRON, A.; ROGNON, A. & PAGÈS, J. R. Host choice by larval parasites: a study of *Biomphalaria glabrata* snails and *Schistosoma mansoni* miracidia related to host size. *Parasitology Research*, 84: 727-732, 1998.

THIONGO, F. W. et al. Host-parasite relationships in infections with two Kenyan isolates of *Schistosoma mansoni* in NMRI mice. *The Journal of Parasitology*, 83: 330-332, 1997.

TOUASSEM, R.; CABARET, J. & COMBES, C. Identification of *Schistosoma mansoni, S. rodhaini, S. bovis, S. haematobium*, and *S. intercalatum* cercariae using segmentation analysis. *Tropical Medicine and Parasitology*, 43: 159-161, 1992.

TRAVASSOS, L. Algumas observações sobre a bionomia do *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, feitas na Cidade do Salvador, Bahia. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 25: 157-163, 1953.

VERJOVSKI-ALMEIDA, S. et al. Transcriptome analysis of the acoelomate human parasite *Schistosoma mansoni*. *Nature Genetics*, 35: 148-157, 2003.

VERMEIRE, J. J. et al. Characterisation of a Rho homologue of *Schistosoma mansoni*. *International Journal for Parasitology*, 33: 721-731, 2003.

VIEIRA, L. Q. et al. Genomic variability in field populations of *Schistosoma mansoni* in Brazil as detected with a ribosomal gene probe. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 44: 69-78, 1991.

VINEY, M. Developing worms need the host immune system. *Trends Parasitology*, 18: 57, 2002.

WARREN, K. S. A comparison of Puerto Rican, Brazilian, Egyptian and Tanzanian strains of *Schistosoma mansoni* in mice: penetration of cercariae maturation of schistosomes and production of liver disease. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 61: 795-802, 1967.

WHITFIELD, P. J. et al. Age-dependent survival and infectivity of *Schistosoma mansoni* cercariae. *Parasitology,* 127: 29-35, 2003a.

WHITFIELD, P. J. et al. Delayed tail loss during the invasion of human skin by schistosome cercariae. *Parasitology*, 126: 135-140, 2003b.

WIPPERSTEG, V. et al. The uptake of Texas Red-BSA in the excretory system of schistosomes and its colocalisation with ER60 promoter-induced GFP in transiently transformed adult males. *International Journal for Parasitology*, 33: 1.139-1.143, 2003.

WOLOWCZUK, I. et al. Infection of mice lacking interleucin-7 (IL-7) reveals an unexpected role for IL-7 in the development of the parasite *Schistosoma mansoni*. *Infection and Immunity*, 67: 4.183-4.190, 1999.

WU, G. Y. et al. Stimulation of *Schistosoma mansoni* oviposition in vitro by animal and human portal serum. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 34: 750-753, 1985.

YOSHINO, T. P.; BOYLE, J. P. & HUMPHRIES, J. E. Receptor-ligand interactions and cellular signaling at the host-parasite interface. *Parasitology*, 123: S143-S157, 2001.

YOSHIOKA, L. et al. *Schistosoma mansoni*: estudo da patogenia da linhagem Santa Rosa (Campinas, Brasil) em camundongos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 35: 203-207, 2002.

3 Migração e Desenvolvimento de *Schistosoma mansoni* no Hospedeiro Definitivo

Henrique Leonel Lenzi
Arnon Dias Jurberg
Paulo Marcos Zech Coelho
Jane Arnt Lenzi

Casal de vermes adultos de *Schistosoma mansoni* (extremidade anterior) em veia mesentérica de camundongo *Swiss Webster* (folheto mesentério corado por Giemsa de Lennert).

Durante uma infecção parasitária, eventos complexos são decisivos para a patogênese, o sucesso reprodutivo e a continuação do ciclo biológico do agente etiológico. Na esquistossomose mansoni, causada pelo trematódeo *Schistosoma mansoni*, os ovos que atingem a massa de água, em condições adequadas, eclodem, liberando uma forma larvar, chamada miracídio, infectante para caramujos, normalmente do gênero *Biomphalaria*. Nesses hospedeiros intermediários, uma série de divisões celulares e modificações morfológicas leva à formação das cercárias. Tal forma larvar é o agente penetrante na pele ou na mucosa de mamíferos suscetíveis, os hospedeiros definitivos (humanos, alguns primatas e diversos roedores). No contato com a pele e no subseqüente reconhecimento dos sítios de penetração, inicia-se uma longa jornada: primeiro, de modo extravascular, o parasito adere e rasteja através das camadas superficiais, orientando-se por meio de pistas físicas e bioquímicas pelo estrato córneo e, subseqüentemente, sobrepujando os estratos granuloso, espinhoso e basal, até atingir a derme, onde localiza e invade preferencialmente vasos venosos; na migração intravascular, os parasitos são carregados passivamente para o coração, de onde são bombeados para os pulmões e têm que lidar com a estreiteza dos capilares pulmonares para retornarem ao coração e serem novamente bombeados, agora para a circulação sistêmica. Os esquistossômulos perfazem dois ou três ciclos sistêmicos até ficarem retidos nos sinusóides hepáticos, onde se desenvolvem, devido aos estímulos do soro sangüíneo portal, e amadurecem sexualmente, a partir de complexas e pouco compreendidas interações moleculares entre os sexos. Outras rotas de migração propostas também são apresentadas. No sistema porta-hepático intestinal, as fêmeas maduras passam a liberar ovos, ainda imaturos, que necessitam desenvolver-se nos tecidos do hospedeiro vertebrado, para então serem eliminados através das fezes, dando continuidade ao ciclo biológico. Os intrincados mecanismos responsáveis pelo estabelecimento e manutenção dessa espécie de parasito em seus hospedeiros são relatados e discutidos, bem como, por fim, algumas lacunas no conhecimento de sua biologia são destacadas.

VISÃO PANORÂMICA DA PENETRAÇÃO CERCARIANA, COM DETALHES DA HISTOLOGIA DA PELE

Para a maior parte dos parasitos, a entrada num hospedeiro adequado é somente o primeiro passo de uma longa jornada (Tragger, 1986). Isso vale também para *S. mansoni*, que usa a cercária como agente penetrante em mucosa ou pele. Após a penetração, num longo percurso inicialmente extravascular e, depois, intravascular, o parasito perfaz vários ciclos na circulação sistêmica mudanças marcantes ocorrem na sua morfologia. Este passa de cercária para esquistossômulo de pele, esquistossômulo pulmonar, verme imaturo e verme adulto macho ou fêmea. As fêmeas maduras passam a depositar ovos, que ao saírem do hospedeiro vertebrado, através das fezes, liberam miracídios, que infectam o hospedeiro invertebrado, mantendo o ciclo biológico. O enorme crescimento corporal entre esquistossômulo de pele e verme adulto pode ser visto na Figura 1. O desenvolvimento e a maturação de *S. mansoni* no hospedeiro vertebrado apresentam duas fases bem nítidas: pré-hepática e hepática/pós-hepática.

Figura 1 – Estágios evolutivos de *Schistosoma mansoni* no hospedeiro definitivo. (A) Comparação de tamanho entre o verme adulto macho e um esquistossômulo dérmico (cabeça de seta; número 1 em B). Estereomicroscopia. (B) Representação esquemática das etapas do desenvolvimento dos esquistossomos, classificadas segundo a forma do ceco gástrico – *Schistograma*. Esquistossômulos de estágio 1 apresentam coloração clara e uma pequena mancha escura, o início do ceco. No estágio 2, os esquistossômulos possuem uma mancha mais escura, agora bifurcada, sem entretanto perpassar o acetábulo. Em esquistossômulos de estágio 3, a mancha escura bifurcada perpassa o acetábulo e se liga posteriormente. No estágio 4, a mancha escura bifurcada reconectada cresce para a extremidade do parasito, mas sem estender-se mais que sua parte bifurcada. Já no estágio 5, o ceco conectado estende-se mais que sua secção bifurcada, mas ainda é três vezes menor do que o seu tamanho final. Por fim, no estágio 6, sempre em vermes adultos maduros, o ceco está completamente desenvolvido, sendo três vezes maior do que no estágio 5 (Barbosa et al., 1978)

Na penetração cutânea, as cercárias usam mecanismos bioquímicos de interação agonista-receptor, além da liberação de enzimas proteolíticas, de ação variada. Para atingir vasos sanguíneos, em geral venosos, e/ou linfáticos, os parasitos transitam por uma série de estruturas complexas, que compõem a epiderme e a derme extravascular. A epiderme consiste de uma camada de epitélio escamoso estratificado, formada principalmente por queratinócitos e, em menor número, melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel (Kierszenbaum, 2002). A célula de Merkel forma desmossomos com queratinócitos e está ligada a uma pequena placa nervosa (fibra nervosa terminal) (Storm & Elder, 2006). Os queratinócitos são arranjados em cinco camadas ou estratos:

- basal ou germinativo;
- espinhoso;
- granuloso;
- lúcido;
- córneo.

Os estratos basal e espinhoso formam o estrato de Malpighi (Kierszenbaum, 2002). Uma célula que se desprende do estrato germinativo leva 14 dias para atingir, em humanos, o estrato córneo, e mais 14 dias para nele transitar, até ser descamada (Haake & Holbrook, 1999). Os queratinócitos produzem uma variedade de citocinas, notavelmente interleucina 1a (IL-1a) e IL-1b, bem como eicosanóides (Storm & Elder, 2006). Na camada germinativa, os queratinócitos expressam predominantemente queratinas cinco e 14, que permanecem em todo o estrato espinhoso, adicionando-se, nesse estrato, as queratinas 1 e 10. No estrato granuloso, predominam as queratinas 2e e 9 (Haake & Holbrook, 1999; Kierszenbaum, 2002). Os queratinócitos também são diferenciados por dois outros produtos estruturais: grânulos querato-hialinos e corpúsculos lamelares de Odland ou queratinossomos (Storm & Elder, 2006). Os grânulos querato-hialinos compõem-se de proteína basofílica elétron-densa, rica em histidina, a profilagrina, que está associada a filamentos intermediários de queratina, que contém também loricrina. Durante a transição de célula granular para célula cornificada, ocorre a conversão de profilagrina para monômeros de filagrina (Haake & Holbrook, 1999). Tanto o estrato lúcido como o córneo consistem de várias camadas de queratinócitos contendo agregados de queratina ligados à filagrina, catalizados por transglutaminases (Kierszenbaum, 2002). Nos estratos lúcido e córneo, os primeiros a entrarem em contato com as cercárias, proteínas depositadas na parte interna da membrana plasmática, formam o envelope celular cornificado. Esse envelope apresenta três camadas: interna ou citoplasmática, composta, em mais de 90%, por loricrina, que se encontra entrecruzada, intra e intercadeias, com pequenas proteínas ricas em prolina um e dois (*small proline-rich proteins* = SPRRs). O terço médio do envelope consiste em aproximadamente 85% de loricrina e SPRRs, bem como de elafina, inibidor de protease. O terço externo, que está conectado a um envelope lipídico, contendo W-hidroxiacil-esfingosina, é constituído principalmente por involucrina e cistatina a (queratolinina), podendo conter também, embebidos, filamentos intermediários de queratina (Kierszenbaum, 2002; Latkowski & Freedberg, 1999). Filamentos de queratina, agregados com filagrina, interagem com a face interna da membrana plasmática para formar o envelope celular (Kierszenbaum, 2002). As células epiteliais envoltas por envelope cornificado são chamadas de corneócitos (Downing, Stewart & Strauss, 1999). É importante destacar que os lipídeos que envolvem o envelope celular, formando o envelope celular composto, derivam da dispersão de discos

lamelares provenientes dos corpos lamelares ou queratinossomos (Downing, Stewart & Strauss, 1999; Kierszenbaum, 2002). Os lipídeos têm uma importante participação na atração de cercárias e, no estrato córneo, são constituídos principalmente por ceramidas, colesterol e ácidos graxos livres. As ceramidas e os ácidos graxos livres derivam de fosfolipídeos acumulados nos grânulos lamelares, que após extrusão sofrem várias clivagens enzimáticas hidrolíticas. Esses grânulos (queratinossomos) contêm fosfolipídeos, esfingomielina, colesterol, glicosilceramidas e outros glicerolipídeos (Downing, Stewart & Strauss, 1999; Elias & Feingold, 1999; Latkowski & Freedberg, 1999).

Durante o processo de penetração cutânea, as cercárias passam inicialmente pelo estrato córneo, onde cada célula está envolta pelo envelope celular composto, antes referido, que é altamente resistente a agressões físicas e químicas (Elias & Feingold, 1999). Além dessa enorme barreira, as cercárias também têm que superar a barreira epitelial formada pelo conjunto de adesões celulares, tais como as junções ancorantes [caderinas e integrinas ($\alpha_6\beta_4$, $\alpha_2\beta_1$, $\alpha_3\beta_1$)] e as junções comunicantes (*gap junctions*, com conexinas) (Alberts et al., 2002; Haake & Holbrook, 1999). Cada desmossomo é formado, intracelularmente, por duas placas citoplasmáticas, compostas por seis polipeptídeos: placoglobina, desmoplaquinas I e II, queratocalmina (desmocalmina), desmoioquina e proteína de banda seis, que intermediam a conexão entre filamentos de queratina e proteínas de adesão transmembranosas. Essas proteínas de adesão (desmogleínas I e III e desmocolinas I e II) pertencem à família das caderinas (Alberts et al., 2002; Haake & Holbrook, 1999).

Vencida a barreira celular, as cercárias passam por uma forte barreira, constituída pela interface ou junção dermo-epidérmica ou zona da membrana basal (ZMB). Ultra-estruturalmente, essa zona inclui:

- a parte mais profunda dos queratinócitos basais, incluindo a membrana plasmática e os tonofilamentos que se ligam à face profunda dos hemidesmossomos;
- os hemidesmossomos;
- os filamentos de ancoragem (laminina cinco), que se estendem das placas densas subdesmossômicas através da lâmina lúcida e inserem-se na lâmina densa;
- a lâmina lúcida composta por lamininas, entactina/nidogênio e fibronectina;
- a lâmina densa, rica em colágeno IV (± colágeno V) e proteoglicanos sulfatados (perlecan);
- fibrilas de ancoragem, que são arranjos de colágeno do tipo VII, estendendo-se desde a face interna da lâmina densa, por uma distância curta, para dentro da derme papilar;
- as microfibrilas de fibras elásticas oxitalânicas, que se misturam ao sistema elástico subjacente de fibras elauninicas e elásticas. Na região onde se localizam as fibrilas ancorantes e as fibras oxitalânicas, logo abaixo da lâmina densa, chamada de lâmina reticular, há também a presença de colágenos intersticiais (tipos I, III, V e VI) (Haake & Holbrook, 1999; Storm & Elder, 2006).

Assim que as cercárias superam a zona da membrana basal, caem na derme, encontrando ali um conjunto variado de proteínas da matriz extracelular, a depender da região dérmica em que se encontram. A derme papilar é constituída por fibrilas delicadas de colágenos intersticiais, fibras do sistema elástico, proteoglicanos (decorina) e tenascina. A derme reticular encontra-se abaixo da derme papilar e contém a maioria do colágeno dérmico, que está organizado em feixes grosseiros e associado com fibras elásticas (Haake & Holbrook, 1999; Storm & Elder, 2006). Colágeno é o principal componente da derme, totalizando

75% de seu peso seco [colágenos I, III, V, VI, VII (fibrilas ancorantes) e IV (parede de vasos, placas ancorantes, apêndices epidérmicos)]. O sistema elástico é responsável por 4% e proteoglicanos [condroitinsulfatos/dermatansulfatos (biglicano, decorina, versicano), heparano/heparansulfatos (perlecan, sindecan), condroitin-6 sulfato] e glicosaminoglicanos (ácido hiarurônico), por 0,2% do peso seco da derme. As seguintes glicoproteínas não colagênicas também participam na composição da matriz extracelular da derme: fibronectina, laminina (restrita às membranas basais), trombospondina, vitronectina (= epibolina, fator de espalhamento sérico, proteína S do complemento) e tenascina (Haake & Holbrook, 1999). Na derme há também células residentes, como fibroblastos (populações heterogêneas), macrófagos e mastócitos. Pequenas coleções de linfócitos podem ser encontradas ao redor de vasos sanguíneos em pele normal. Pericitos e células veladas envolvem a parede de vasos sanguíneos e células de Schwann cercam fibras nervosas. O sistema mononuclear-fagocítico da pele pode ser dividido em duas linhagens: a linhagem monocítica-macrofágica e a linhagem de células dendríticas. Essa inclui células de Langerhans, células indeterminadas, células interdigitantes e dendrócitos dérmicos (Haake & Holbrook, 1999).

Na pele, a última barreira a ser vencida pelos esquistossômulos antes de caírem na circulação sanguínea ou linfática é a parede dos vasos. Os capilares venosos e as vênulas pós-capilares de maior diâmetro apresentam múltiplas camadas de lâmina basal separadas por fibrilas colagênicas interpostas e uma bainha frouxamente organizada de pericitos e de células veladas (tipo especial de célula da linhagem dendrítica). Os vasos linfáticos têm parede delgada, constituída apenas por endotélio, lâmina basal descontínua e fibras elásticas (Haake & Holbrook, 1999).

No decorrer deste capítulo serão apresentados, em detalhe, os principais mecanismos envolvidos na penetração cercariana na pele e no desenvolvimento e maturação de *S. mansoni* em hospedeiro vertebrado, além de sítios de atrito, encontrados no hospedeiro, com a penetração e a migração do parasito.

LOCALIZAÇÃO DO HOSPEDEIRO DEFINITIVO PELAS CERCÁRIAS

A penetração das cercárias de *S. mansoni* na pele de hospedeiros mamíferos suscetíveis é antecedida por uma fase de movimentos natatórios de propulsão retrógrada (*tail-first*), que ocorrem intermitentemente. As cercárias de *S. mansoni* tendem a iniciar a natação quando expostas a um aumento ou a um decréscimo da intensidade luminosa (Saladin, 1982). Quando ativa, a cercária usualmente se desloca para a superfície da água, alternando com momentos de passividade, nos quais afunda. Todavia, o afundamento é retardado por influência da água, que arrasta a cercária quando esta adota posturas características, tal como a extensão da fúrcula, de pregas estabilizadoras ou de estruturas semelhantes aos pêlos (Haas, 1994). Além disso, o comportamento cercariano e seu sistema nervoso estão intimamente relacionados, já que a presença de diversas papilas sensoriais e de neurônios na extremidade anterior do segmento corporal, na região ventral, na ventosa oral e na cauda estão expostas aos estímulos externos durante a natação (Cousin et al., 1995; Cousin & Dorsey, 1991; Dorsey et al., 2002).

A aproximação em direção ao hospedeiro é favorecida por respostas específicas às perturbações na água, ao toque (Haas, 1992), à formação de um gradiente termal tão fraco como 0,15º C/mm (Haas, Granzer & Brockelman, 1990) e, mais fracamente, aos estímulos químicos emitidos pela pele (Wilson, 1987) e a estímulos fóticos (Saladin, 1982). O sombreamento e a turbulência provocados por mamíferos que tenham entrado na

água (Wilson, 1987), bem como estímulos químicos, não parecem ser fatores relevantes para cercárias de *S. mansoni*. As cercárias aumentam seu reduzido nível de atividade, o que faz economizar energia, saindo do fundo da coluna de água para a superfície, o que provavelmente melhora as suas chances de encontro com o hospedeiro, já que os parasitos passam a explorar um maior volume de água (Haas, 1994).

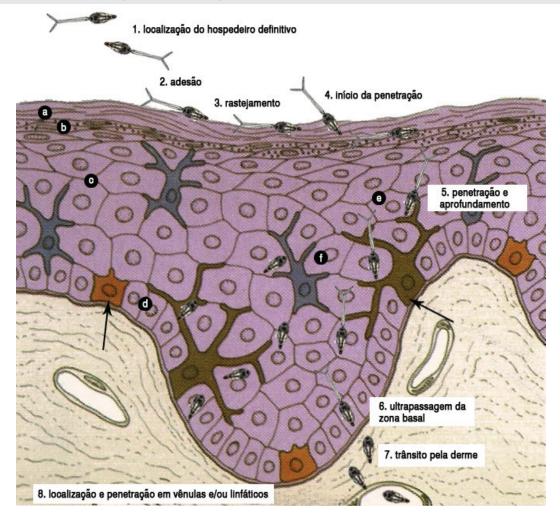
RECONHECIMENTO, INVASÃO E MIGRAÇÃO (PENETRAÇÃO) ATRAVÉS DA PELE

Aspectos Moleculares

As cercárias de *S. mansoni* apresentam um padrão bastante diferenciado de reconhecimento e invasão do hospedeiro, realizando as seguintes e distintas fases:

- natação próximo à superfície da água, lá permanecendo em resposta a luz, gravidade e temperatura, como visto anteriormente;
- adesão, quando a cercária é tocada pelo hospedeiro. Calor e L-arginina são os sinais estimulantes por parte do hospedeiro (Granzer & Haas, 1986; Haas, 1976; Haas et al., 1994);
- contato duradouro com o hospedeiro, em resposta ao calor e a lipídeos da superfície da pele, principalmente ceramidas (Haas, 1976; Haas et al., 2002);
- rastejamento até sítios adequados de entrada, pelos quais as cercárias respondem a gradientes de temperatura e de concentração de arginina (Haas, 1976; Haas et al., 1994);
- penetração e transformação do tegumento, estimulados por ácidos graxos livres (Austin, Stirewalt & Danziger, 1972; Haas & Schmitt, 1982a, 1982b; Shiff et al., 1972);
- secreção de enzimas proteolíticas derivadas de conteúdo de glândulas acetabulares, em resposta a ácidos graxos definidos (provavelmente na superfície da pele) e a glicosilceramidas e fosfolípídeos (provavelemente em camadas mais profundas da epiderme) (Haas et al., 1997). As fases da penetração cercariana na pele estão esquematizadas na Figura 2, adiante.

A adesão ao hospedeiro ocorre através da região da ventosa oral, após a realização de um padrão característico de movimentos, no qual a cercária inverte seu modo de natação com a cauda para frente e assume uma postura com o corpo na posição anterior, passando a executar freqüentes reversões na direção da natação (Wilson, 1987). Ao tocar na pele de mamíferos suscetíveis, as cercárias fixam-se fortemente, sendo estimuladas pelo calor e por sinais de L-arginina, e permanecem em contato duradouro com o hospedeiro, em resposta a lipídios de superfície, principalmente ceramidas, e igualmente ao calor gerado pelo substrato. As cercárias então exploram (por arrastamento ou rastejamento) a pele, seguindo gradientes de temperatura e de concentração de arginina (que não é específica para a superfície da pele humana), buscando sítios adequados para realizar a penetração nas camadas mais profundas da pele. A resposta à estrutura particular da molécula L-arginina é muito específica, mostrando grande sensibilidade a concentrações tão pequenas quanto 0,1 μM. Assim, a modificação de qualquer parte da estrutura dessa molécula, seja do grupamento guanidino, da cadeia de hidrocarbonetos, do grupamento α-amino ou do grupamento carboxila, bem como de qualquer grupamento funcional isolado, não possui qualquer atividade estimulante na resposta das cercárias (Haas et al., 1997).

Figura 2 – Principais fases de penetração cercariana na pele, passando pelos estratos córneo (a), granuloso (b), espinhoso (c) e basal ou germinativo (d), ultrapassando a zona da basal, penetrando na derme e invadindo preferencialmente vasos venosos e, secundariamente, vasos linfáticos. As cercárias, durante a penetração, costumam perder suas caudas (f), embora possam mantê-las durante um período inicial (e). Célula de Langerhans (seta longa). Célula de Merkel (seta curta)

No entanto, somente outros dois aminoácidos básicos, L-histidina e L-ornitina, assim como a L-homoarginina, também possuem algum efeito estimulante em baixas concentrações, enquanto as cercárias não respondem a nenhum aminoácido, ácido ou neutro, de extratos da superfície da pele humana. Uma característica comum entre os aminoácidos básicos citados é a presença de um grupamento radical positivamente carregado, que poderia ser um dos pré-requisitos dessas moléculas para se ajustarem em um sítio hipotético do receptor de L-arginina das cercárias. Somente alguns compostos, como a L-lisina e alguns análogos da L-arginina, mostram atividade estimulante significativa em concentrações maiores (Haas et al., 1997).

Diversas hipóteses (Haas et al., 1997) já foram levantadas para explicar o papel da L-arginina na adesão, penetração e migração das cercárias na pele de hospedeiros mamíferos. A mais clássica (Granzer &

Haas, 1986; Haas, 1994; Stirewalt, 1971) faz referência a um possível papel desse aminoácido como feromônio intraespecífico, segundo o qual os conteúdos das glândulas pós-acetabulares, que possuem arginina (Granzer & Haas, 1986), serviriam como um sinal de atração para as outras cercárias aderirem ao hospedeiro apropriado. Esse mecanismo, portanto, possibilitaria uma importante vantagem seletiva, já que facilitaria a penetração de grupos de cercárias, que preparariam o caminho para outras que as seguissem (Griffiths, 1953), como observado em condições experimentais (Stirewalt, 1971). Assim, a penetração até a derme, se desencadeada por muitas cercárias, é mais rápida do que aquela efetivada por poucas, graças à utilização de túneis, deixados na pele pelas cercárias anteriores (Griffiths, 1953), economizando energia e conteúdo glandular, além de contornar mais facilmente o sistema imunológico do hospedeiro (Stirewalt, 1971).

Todavia, mesmo que as cercárias tenham uma alta sensibilidade e especificidade à arginina proveniente das glândulas pós-acetabulares, orientando, assim, sua fase de exploração da pele por um gradiente crescente de concentração desse aminoácido, parece improvável que a arginina cercariana atue como feromônio intraespecífico, já que o conteúdo de arginina da pele humana, por si só, evoca respostas máximas das cercárias (Haas et al., 1997; Ingram et al., 2003). Logo, a secreção adicional de arginina pelas cercárias em penetração possivelmente não exerce nenhum efeito quimioatrativo nas cercárias adjacentes, e isto decorre também do fato de as glândulas acetabulares conterem somente uma pequena quantidade de arginina livre ou ligada (Haas et al., 2002). Isso parece ser bastante plausível, pois sob condições naturais, onde as cercárias estão amplamente dispersas, a chance de algumas se encontrarem e explorarem, simultaneamente, a grande extensão relativa da superfície da pele humana, é teoricamente mínima. Estudos de campo realizados em Santa Lúcia (Upatham & Sturrock, 1973), por exemplo, relatam densidades de cercárias por litro de água, em alguns locais, que variam de 0,01 a 150 indivíduos, enquanto em experimentos controlados em laboratório, no qual a penetração de grupos de cercárias também não foi observada, a densidade por litro de água chegou a atingir 20 mil cercárias (Ingram et al., 2003). Como alternativa, é possível que, ao invés da atração via feromônio cercariano, componentes liberados pela pele perto das cercárias possam estimular a sua penetração, em grupo (Haas et al., 2002).

Outras explicações (Haas et al., 2002) para a especificidade de L-arginina como estímulo para adesão, penetração e migração cercarianas foram baseadas no seguinte:

- os níveis de arginina do soro do hospedeiro diminuem muito após a infecção com *S. mansoni,* já que a doença aumenta os níveis de arginase no soro e no fígado (Page & Newport, 1977) e converte arginina em prolina, que é então utilizada na síntese de colágeno pelo fígado (Dunn et al., 1978; Senft, 1966; Senft, 1966; Senft 1967; Tanabe; Kaneko & Tageuchi, 1989). Além disso, a arginina é ativamente incorporada pelos vermes adultos e ovos. Dessa forma, se uma infecção também diminuísse a concentração de arginina na pele, as cercárias poderiam evitar os hospedeiros já cronicamente infectados e preservar a sua infectividade para os indivíduos mais promissores (Haas et al., 2002). Porém, o conteúdo de arginina na pele não varia significativamente e as cercárias não possuem mecanismos para diferenciar entre hospedeiros infectados, com hepatoesplenomegalia avançada, alta densidade de granulomas no fígado, baço e intestino, e hospedeiros saudáveis (Haas et al., 2002);
- a utilização da L-arginina como precursor de óxido nítrico (NO), que tem um efeito vasodilatador, normalmente sintetizado pelo endotélio (Cohen, 2000; Cosentino & Lüscher, 1996; Pohl & Wit,

1999), favoreceria a entrada dos esquistossômulos nos capilares sanguíneos (Coulson, 1997), e a sua migração posterior. No entanto, esse mecanismo não parece ser possível, já que os esquistossômulos, à primeira vista, não são capazes de converter L-arginina em citrulina. Não obstante, não pode ser excluída a possibilidade, numa fase posterior da migração na pele, de os esquistossômulos produzirem NO na presença de um sinal vasoespecífico;

- a remoção de L-arginina dos tecidos circundantes, pelos esquistossômulos, através da ligação em receptores específicos ou pela sua conversão em derivados metabólicos (Haas et al., 2002), poderia ser um mecanismo de escape dos esquistossômulos ao ataque de macrófagos e de células endoteliais sanguíneas do hospedeiro, com a produção de NO-reativo (Ahmed et al., 1997; James & Boros, 1994). A produção de NO necessita de L-arginina como fonte, e é catalisada por NO sintase sob indução de citocina (Oswald et al., 1994b). A ausência de L-arginina, portanto, inibe o efeito citotóxico dessas células imunocompetentes (James & Glaven, 1989). Todavia, os esquistossômulos não ligam mais L-arginina do que outros aminoácidos (Haas et al., 2002), o que não descarta a possibilidade de tal ligação ocorrer em estágios mais tardios do seu desenvolvimento. O efeito protetor da remoção de arginina dos tecidos pode não ter a sugerida importância para os esquistossômulos, pois a atividade citotóxica do NO é provavelmente menos relevante *in vivo* do que nos experimentos *in vitro* (Haas et al., 2002);
- logo após a penetração, os esquistossômulos migram paralelamente à superfície da epiderme, entre o estrato córneo superficial e o estrato granuloso ou suprabasal, em peles mais delgadas. Essa localização é arriscada para o parasito, já que eles podem ser eliminados caso a cobertura do estrato córneo se rompa. Parece, assim, ser de grande importância para a sobrevivência dos esquistossômulos que eles tenham informação sobre a posição das camadas internas (a direção da migração a seguir) e da superfície da pele (direção a ser evitada na migração). Essa informação posicional necessária parece ser obtida por meio de gradientes de concentração de resíduos de L-arginina na epiderme humana, criados pela atividade de peptidil-arginina deiminases (PADs). Essas enzimas convertem arginina em citrulina, num processo chamado de citrulinação ou deiminação. A concentração desses resíduos é menor no estrato córneo superficial e vai progressivamente aumentando até o estrato germinativo basal (Senshu et al., 1995), podendo ser aproveitada pelos esquistossômulos para ajustarem sua correta posição na epiderme e orientarem sua posterior migração pelos tecidos dermais (Haas et al., 2002). Isso foi observado, *in vitro*, em um primeiro período de migração, no qual os esquistossômulos mostraram-se sensíveis a gradientes crescentes de D-glicose e L-arginina (Haas et al., 2002). Assim, seria possível que a especialização das cercárias de *S. mansoni* ao sinal de L-arginina possa ter evoluído para esse importante papel de orientação na migração inicial pelo hospedeiro, tendo o receptor de L-arginina obtido a função de identificação da superfície da pele na resposta de adesão e de quimiorientação durante a fase de exploração da epiderme (Haas et al., 2002).

No entanto, ácidos graxos livres da pele foram identificados como os principais fatores estimulantes para a penetração das cercárias na pele (Stirewalt, 1971). As características químicas desses ácidos graxos sugerem que as moléculas se encaixam em receptores cercarianos, que interagem com a terminação do grupamento carboxílico e as ligações duplas *cis*; todavia, algum efeito pode ser ocasionado pela

permeabilização passiva das moléculas na superfície do corpo da cercária (Haas, 1984; Haas & Schmitt, 1982a; Haas & Schmitt, 1982b). Contudo, ainda não é conhecido qual dos receptores cercarianos já identificados responde a esse estímulo. De outra forma, outros ácidos graxos essenciais, não ligados ao processo de penetração, adicionalmente evocam a síntese de vários eicosanóides pela cercária de *S. mansoni*, que podem funcionar na evasão imunológica (Fusco, Salafsky & Delbrook, 1986; Fusco & Salafsky, 1987; Salafsky et al., 1988). Os lipídeos da superfície da pele, que apresentam ação estimulatória sobre cercárias, são ácidos graxos livres, insaturados, de cadeia média, principalmente ácidos linolênico e linoléico (Stirewalt, 1982).

Peculiaridades da Pele de Diversos Hospedeiros, Tempo dos Eventos na Migração Cutânea e a Perda da Cauda

A duração do ato de penetração das cercárias na pele varia de hospedeiro para hospedeiro: no homem e em cães jovens costuma ser de 15 minutos aproximadamente (Faust, Jones & Hoffman, 1934; Pinto & Almeida, 1945), mas pode variar de 3,1 a 17 minutos na pele humana (Stirewalt & Hackey, 1956) e de 0,7 a 19 minutos na pele de outros animais (camundongo, rato, macaco, hamster), a depender do sítio de infecção e da idade do animal (Stirewalt & Hackey, 1956). Já em culturas de células humanas (Barlett et al., 2000), o tempo o qual a adesão/penetração na pele foi máxima gira em torno de cinco minutos após a exposição às cercárias. Mesmo num determinado animal, como, por exemplo, no camundongo, a taxa de migração variou em diferentes tipos de pele, sendo mais lenta na pele da cauda. A derme da pele abdominal e da orelha foi invadida quase imediatamente por algumas cercárias migrantes, a primeira em até três minutos após a aplicação das cercárias. Na derme da pele da cauda, as primeiras cercárias migrantes foram encontradas somente após uma hora. A invasão efetiva de veias ou vênulas ocorreu no período de dois dias na pele abdominal, três dias na pele da orelha e cinco dias na pele da cauda. Nenhum parasito foi encontrado na pele abdominal e da orelha após quatro e cinco dias, respectivamente. Porém, eles permaneceram na pele da cauda pelo menos por 11 dias (Stirewalt, 1959). Virtualmente, nenhum parasito abandona a pele antes de 48 horas no camundongo, hamster ou rato, com tempo médio de saída estimado em 88, 65 e 70 horas, respectivamente (Miller & Wilson, 1978). Uma vez na derme, são necessárias mais dez horas para localizar uma vênula dérmica e 8,5 horas para penetrar a parede vascular e sair da pele (Curwen & Wilson, 2003).

A penetração, portanto, ocorre de forma bastante singular e é extremamente rápida, sendo antecedida por uma breve fase de adesão, na qual há a participação de secreções mucosas das glândulas pós-acetabulares. Tais glândulas compreendem três pares de células localizadas na região distal do segmento corporal da cercária, que enviam processos para a extremidade anterior, formando um sistema de ductos (Dorsey et al., 2002). Ainda durante a penetração, as cercárias de *S. mansoni* surpreendentemente podem reter suas caudas (Khammo et al., 2002; Whitfied et al., 2003), o que contraria o consenso atual de que as cercárias perderiam suas caudas no início da penetração (McKerrow & Salter, 2002; Sturrock, 1993; Wilson, 1987). Tal lugar-comum provavelmente se originou a partir da utilização de níveis implausivelmente elevados de densidades cercarianas (Gordon & Griffiths, 1951; Griffiths, 1953), induzindo à suposição de que o achado das caudas fosse apenas um artefato das condições experimentais não-fisiológicas (Whitfied et al., 2003). Nesses experimentos, trabalhando com pele humana, num preparado com câmaras de Franz (*Franz cells*) (Barlett, et al., 2000), ou com culturas de queratinócitos humanos, os pesquisadores

observaram, por microscopia eletrônica de varredura, que aproximadamente 88% das cercárias penetrantes podem reter suas caudas durante a penetração, soltando-as só mais tardiamente, num fenômeno que foi rotulado de perda tardia da cauda [*delayed tail loss* (DTL)].

Desde a década de 1950, no entanto, o fenômeno da perda tardia das caudas, encontradas nos túneis criados pelas cercárias, já fora demonstrado em camundongos a partir de densidades não-excepcionais (Stirewalt, 1959). Um fato bastante interessante é que tal perda é facilmente induzida, *in vitro*, por estímulos mecânicos (Brink, McLaren & Smithers, 1977) e por estímulos químicos, como o uso de linoleato (Hara et al., 1993). A retenção das caudas, com seus espinhos no tegumento, teria a função de facilitar a movimentação cercariana para o interior da pele, através dos túneis de penetração, evitando movimentos retrógrados (Whitfied et al., 2003).

Nesse contexto, a perda tardia da cauda da cercária de *S. mansoni* poderia significar uma possível adaptação ao hospedeiro vertebrado, que favoreceria a mistura de antígenos larvais com a pele do animal infectado, acentuando a efetividade do ramo antilarvar da imunidade concomitante. A mistura de antígenos, portanto, incluiria os antígenos internos, como a paramiosina, e os antígenos de superfície da cauda. A paramiosina é uma proteína estrutural da musculatura da cauda (Gobert, 1998), o que poderia ajudar a explicar a presença de anticorpos antiparamiosina nas imunogloblulinas humanas produzidas em resposta a uma infecção esquistossomótica. A paramiosina, assim, pode ser considerada uma candidata para uma possível vacina contra a esquistossomose (Gobert, 1998). Mesmo que as caudas sejam tão somente liberadas na zona epidérmica da pele, os antígenos ainda seriam acessíveis para o sistema imunológico, visto que células de Langerhans (células dendríticas imaturas) podem atuar como células apresentadoras de antígeno, estimulando linfócitos T em linfonodos drenadores da pele.

A perda da cauda serve, junto com o aumento da temperatura, como um estímulo para alterações de permeabilidade que ocorrem na transformação de cercária para esquistossômulo (Colley & Wikel, 1974; Howells et al., 1974; Ramalho-Pinto et al., 1974). Porém, a perda da cauda não é essencial para que isso ocorra (Ramalho-Pinto, et al., 1974). Foi demonstrado que esquistossômulos que retiveram a cauda, após penetração cutânea *in vitro*, sobreviveram e cresceram em cultura (Clegg, 1965; Clegg & Smithers, 1971). A perda da cauda decorre de trauma mecânico, provocado por movimentos contra a resistência do corpo fixo, e não da secreção proteolítica das glândulas acetabulares (Howells et al., 1974).

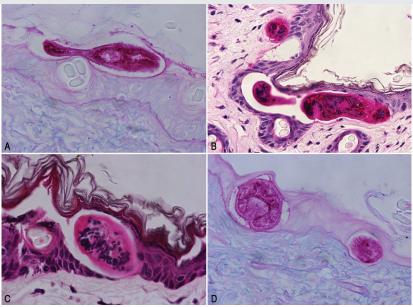
Recentemente, as causas e implicações da imunidade concomitante passaram a ser examinadas sob uma perspectiva evolutiva (Brown, 2001), segundo a qual uma possível vantagem para os vermes adultos (e, presumivelmente, para as cercárias que se tornarão adultas) seria a manipulação da resposta imunológica de seus hospedeiros, prevenindo as futuras infecções por outras cercárias e assim desfavorecendo a competição para a cópula ou por microambientes preferenciais no hospedeiro.

A duração do período de permanência das larvas infectantes na pele do hospedeiro vertebrado, bem como a duração do ato de penetração dependem, portanto, de alguns fatores, como a espécie de esquistossomo e sua cepa, além da espécie de hospedeiro suscetível, como foi mostrado no início deste tópico.

Aspectos Anatômicos da Penetração Cercariana

Uma vez na vizinhança da pele quente, as cercárias prendem-se nos pêlos, enovelando-se nas hastes pilosas em direção à superfície da pele, ou aderem diretamente à própria superfície cutânea, onde são

estimuladas, por lipídeos da pele, a penetrar (Stirewalt, 1982). A penetração envolve a orientação das cercárias para um sítio de entrada na pele, aderência firme pela região da ventosa oral, grande atividade muscular e copiosa secreção glandular (Stirewalt & Hackey, 1956). De fato, elas aderem pela ventosa oral numa gota de muco secretada pelas glândulas pós-acetabulares e passam, depois, a rastejar sobre a superfície da pele, trazendo a ventosa ventral para frente a fim de substituir a ventosa oral posicionada sobre o muco secretado. Nesse rastejamento, elas aparentemente passam a perceber sítios de entrada, constituídos por irregularidades tais como extremidades frouxas nas escamas epidérmicas, pregas ou sulcos, ângulos dos pêlos ou sítios de entrada (túneis) provocados por cercárias que penetraram anteriormente (Stirewalt, 1971). Um dos mecanismos de orientação parece estar baseado em uma modificação da orientação fotopositiva durante o estágio de vida livre cercariano para um estado de foto-orientação negativa durante a fase de migração para as camadas mais profundas da pele (Grabe & Haas, 2004). Na principal via de penetração (Gordon & Griffiths, 1951; Stirewalt & Dorsey, 1974; Wheater & Wilson, 1979), as cercárias atravessam o estrato córneo em posição perpendicular à superfície (Figura 3), liberando os conteúdos das suas glândulas de penetração, e ingressam no estrato de Malpighi (constituído pelos estratos espinhoso e basal), seja por um folículo piloso ou em qualquer outro ponto da pele (Pinto & Almeida, 1945). Uma função dessas secreções é amaciar o estrato córneo para facilitar a passagem do parasito. Tais secreções se espalham lateralmente por entre os interstícios do estrato córneo, embora não permeiem da mesma maneira os queratonócitos vivos (Riengrojpitak, Anderson & Wilson, 1998).

Figura 3 – Etapas iniciais da invasão cercariana (até duas horas) em pele de camundongo *Swiss Webster*: (A) Penetração horizontal sob o estrato córneo, com manutenção da cauda (PAS-Azul de Alciano pH 2.5); (B) Presença de duas cercárias, uma delas atingindo a membrana basal da epiderme, ainda com a cauda, e a outra localizada parcialmente na derme superficial (Hematoxilina-Eosina); (C) Cercária atingindo membrana basal epidérmica (Hematoxilina-Eosina); (D) Duas cercárias intra-epidérmicas, cortadas transversalmente, com parte da face inferior tocando na membrana basal epidérmica (PAS-Azul de Alciano pH 2.5)

A superfície da epiderme é constituída pelo estrato córneo, que consiste de várias camadas de queratinócitos sem núcleo e com um citoplasma contendo agregados de citoqueratina associados à filagrina. O complexo queratina-filagrina deposita-se sobre a parte interna da membrana plasmática, formando uma estrutura cornificada, chamada de envelope celular. Em adição ao complexo queratina-filagrina, o envelope celular contém mais três proteínas: involucrina e pequenas proteínas ricas em prolina e loricrina. Essas proteínas são interligadas por transglutaminases. Um envelope lipídico externo, formado por lipídeos extrudados dos corpos lamelares, contribui para a montagem de um envelope celular composto (Kierszenbaum, 2002). Em um ambiente aquático, a camada córnea perde a maioria de sua função como barreira, devido à hidratação dos espaços intercelulares. As cercárias movem-se, portanto, facilmente entre tais células, sem requerer qualquer atividade de degradação.

Ao atingirem o estrato espinhoso da parte média da epiderme, no entanto, tais vermes têm que sobrepujar as interações célula-célula específicas (desmossomos, compostos por caderinas não clássicas: desmocolina, desmogleína) pelo rompimento da camada celular (acantólise), formando diversos túneis facilmente observáveis numa movimentação lateral. Nesse momento, uma potente protease, denominada elastase cercariana, é identificada nas secreções da glândula acetabular (Salter et al., 2000). Uma vez que se aproximam da membrana basal da derme-epiderme, a velocidade de penetração das cercárias é retardada. Para entrar na derme, esses parasitos devem degradar as proteínas fibrilares da matriz da membrana basal (laminina, nidogênio, colágeno IV, perlecan), possivelmente mediante atividade proteolítica das glândulas acetabulares. Nesse estágio da penetração, possivelmente devido à sua localização distal, as cercárias não parecem atrair infiltrados leucocitários, exceto no ponto de entrada, onde ocorre a agregação de neutrófilos e macrófagos. Por sua vez, uma considerável intumescência da pele, adjacente aos parasitos, se torna aparente após 24 horas de penetração (Riengrojpitak, Anderson & Wilson, 1998).

A quimiorientação em direção a L-arginina livre e D-glicose pode ser um mecanismo adicional que apóie a migração em direção às camadas mais profundas da pele (Grabe & Haas, 2004). De fato, há um aumento da concentração de glicose na superfície da pele humana, de 0,6-1,7 mM (Spier & Schwarz, 1963) para 2,2-5,0 mM, na epiderme (Kansky, 1966), e 4,4-6,0 mM, no sangue. A concentração de resíduos de arginina epidérmicos também aumenta em direção às camadas mais profundas (Senshu et al., 1995).

A junção dermo-epidérmica ou zona da membrana basal (ZMB) é alcançada entre 30 e 150 minutos, ficando os vermes separados da derme por uma fina membrana basal, que constitui uma importante barreira à migração subseqüente dos parasitos (Figura 3). Assim, o rompimento dessa barreira necessita do esforço concentrado das cercárias (Bruce et al., 1970). Nesse período, ocorre o extensivo rompimento e lise das células epidérmicas e a distensão e a interrupção da membrana basal logo abaixo dos parasitos, enquanto a área apical dos vermes retrai-se, mostrando-se ligeiramente subterminal. Espinhos proeminentes estendem-se pela membrana basal, por vezes indistinta. Os sulcos tegumentares e as papilas sensoriais não-ciliadas da região anterior, no entanto, permanecem evidentes, embora as papilas posteriores se mostrem freqüentemente danificadas. O tegumento apical contém numerosos grânulos secretórios, que parecem originar-se da glândula da cabeça (Crabtree & Wilson, 1985). Ainda nessa localização, um infiltrado de células MHC II$^+$, Mac-1$^+$ é atraído para a derme subjacente, embora as cercárias não sejam cercadas por leucócitos na epiderme. Em alguns casos, os leucócitos dermais podem ser encontrados distantes dos parasitos, embora também possam estar localizados na proximidade, criando uma rede de células em interação (Riengrojpitak, Anderson & Wilson, 1998).

Em peles de camundongos, a maioria das cercárias migra horizontalmente entre o estrato espinhoso e a membrana basal da epiderme para um folículo piloso, onde ocorre a passagem pela membrana basal da glândula sebácea (Stirewalt, 1959, 1982; Wheater & Wilson, 1979). Acredita-se que essa trajetória é preferencial devido a uma menor resistência contra a migração (Wheater & Wilson, 1979). No entanto, a penetração na derme diretamente pela membrana basal é uma rota alternativa, já que algumas cercárias são encontradas logo abaixo da epiderme 24 horas após a infecção (Stirewalt, 1959; Wheater & Wilson, 1979). Nessa fase, a sobrevivência parece ser totalmente dependente da informação sobre a posição das camadas mais internas da pele (a direção da migração subseqüente) e a superfície da pele, que deve ser evitada (Grabe & Haas, 2004). As cercárias mantêm os seus lados ventrais em direção às altas concentrações de L-arginina, respondendo ainda mais sensivelmente quando esse aminoácido está ligado a peptídeos (Grabe & Haas, 2004). Além disso, a orientação do corpo em direção a concentrações crescentes de glicose também sugere a existência de um mecanismo de navegação seguro pela pele do hospedeiro (Grabe & Haas, 2004). Na pele da cauda de camundongo pode ocorrer, entre o 7º e o 11º dias após a infecção, o retorno de parasitos para a epiderme, alguns voltando ao longo de folículos pilosos e outros se localizando em diferentes níveis de profundidade da derme, podendo ser encontrados necróticos e envoltos por reação celular (Stirewalt, 1959).

Uma vez na derme, os esquistossômulos seguem pela bainha de tecido conectivo perifolicular ou partem da derme papilar para os tecidos mais profundos, na procura de vasos venosos ou linfáticos, por onde abandonam a área exposta (Stirewalt, 1959). Alguns esquistossômulos retornam para a superfície, como já comentado, e outros perdem-se, como nômades, na junção dermo-hipodérmica, na hipoderme, ficando imersos entre células adiposas, e outros se afastam até fáscia intermuscular (Standen, 1953; Stirewalt, 1959).

Estudo ultra-estrutural da penetração cercariana na pele de camundongo revelou que a migração através das camadas intermédia e basal envolvia dano a desmossomos, membrana plasmática, citoplasma e organelas de células adjacentes aos esquistossômulos. Os núcleos pareciam inicialmente refratários aos efeitos dos esquistossômulos e mostravam alterações degenerativas somente após o citoplasma estar quase completamente dissolvido. Antes da membrana basal da epiderme ser completamente desintegrada, fibras colagênicas e fibrócitos subjacentes apresentaram alterações degenerativas, sugerindo que a secreção lítica se difundia através da membrana, atuando nos constituintes do tecido conectivo e facilitando a passagem do parasito (Bruce et al., 1970).

Participação de Enzimas Proteolíticas

Durante o processo de penetração, as dez glândulas (aproximadamente 30% do volume corporal) de cada cercária liberam seus conteúdos, com atividade lítica, contribuindo com os eventos mecânicos (Salter et al., 2000). A cercária tem três tipos de células glandulares, que contêm vesículas secretoras pré-formadas:

- as glândulas acetabulares;
- glândula da cabeça ou cefálica;
- corpos celulares subtegumentares.

Cada uma delas exerce uma função na invasão do hospedeiro ou na transformação do parasito (Dorsey et al., 2002). Muitas proteases, com especificidades para vários substratos, têm sido identificadas nas glândulas pré e pós-acetabulares, sendo a mais importante uma serina-protease chamada elastase cercariana (Newport et al., 1988; Salter et al., 2000). Macromoléculas do hospedeiro, representando barreiras para a penetração cercariana, podem ser clivadas por atividades proteolíticas presentes nas secreções cercarianas. Essas moléculas incluem elastina (Gazzinelli & Pellegrino, 1964), condromucoproteína (Dresden & Asch, 1972), queratina (Tzeng et al., 1983), fibronectina, laminina e colágenos IV e VIII (McKerrow et al., 1985). Os conteúdos das glândulas acetabulares se exaurem entre uma e duas horas após o início da penetração cercariana (Brink, McLaren & Smithers, 1977; Cousin, Stirewalt & Dorsey, 1981) e estão completamente ausentes em 40 horas (Crabtree & Wilson, 1985). Portanto, a degeneração das glândulas acetabulares ocorre antes da entrada na derme e muito antes da invasão vascular (McKerrow & Salter, 2002). Então, perguntam Curwen & Wilson (2003), como o parasito rompe a barreira da membrana basal, cruza a derme e penetra a parede de uma vênula? Forte evidência morfológica aponta para a glândula cefálica como fonte de qualquer atividade hidrolítica expressa pelas cercárias (Crabtree & Wilson, 1985). Essa glândula é visível em esquistossômulos com três dias ou mais de idade e suas densas secreções granulares são liberadas da região apical esquistossomular quando pressionada contra a membrana basal e a parede de vênula (Curwen & Wilson, 2003). Em adição, a cápsula muscular da cabeça do esquistossômulo permanece até que a larva tenha pelo menos cinco dias de idade, ajudando, potencialmente, a região apical espinhosa a atuar como um aríete, provocando rompimento mecânico da parede do vaso. Como os músculos capsulares da cabeça são rapidamente perdidos durante a migração pulmonar, sua retenção durante a migração cutânea implica que tanto a musculatura como a área apical são funcionalmente importantes para o sucesso da invasão vascular (Crabtree & Wilson, 1985). A caracterização das secreções da glândula cefálica contribuirá para uma melhor intelecção do fenômeno migratório dos esquistossômulos, principalmente após a passagem pela barreira epidérmica.

Altos níveis da Ca^{2+}, equivalente a 10 M, têm sido demonstrados nas glândulas pré-acetabulares das cercárias (Dresden & Edlin, 1974). O influxo cercariano de Ca^{2+} é importante na liberação de proteinases (Fusco et al., 1991) assim como o Ca^{2+} também estimula a remoção do glicocálix, em cooperação com as proteases liberadas pela glândula, limitando assim os possíveis danos à membrana da superfície tegumentar, que podem resultar de ataques pelo complemento (Ruppel et al., 1983). O Ca^{2+} cercariano pode exercer outros efeitos hipotéticos durante a penetração cutânea:

- ligar-se a fosfolipídeos e prevenir danos à membrana; aumentar a perda da cauda durante a penetração;
- danificar a membrana parasitária quando em altas concentrações;
- prevenir a dispersão de antígenos do glicocálix e delongar sua apresentação a células apresentadoras de antígenos;
- estimular a coagulação sanguínea, que pode selar capilares rotos durante a migração parasitária.

Todavia, permanece uma questão não respondida: qual a função da alta concentração de Ca^{2+} nas cercárias? (Modha et al., 1998).

Fatores que Interferem na Penetração Cercariana

A penetração cercariana pode ocorrer entre 7°C e 45°C, com uma média de penetração boa entre 16°C e 35°C e ótima entre 27°C e 28°C (De Witt, 1965; Stirewalt & Fregeau, 1965). A idade das cercárias pós-eliminação dos caramujos é também um fator de grande importância, sendo ótima de uma a três horas, perdendo levemente a capacidade de penetração nas seguintes cinco horas, sem, contudo, perder a capacidade de maturação (Olivier, 1966; Stirewalt & Fregeau, 1965). O período de eliminação pelos caramujos (*patency of snail infection*), entre 41 e 46 dias, é consistente com a diminuição da capacidade cercariana, refletindo algum tipo de crise na fisiologia do caramujo (Stirewalt & Fregeau, 1965). A relação da concentração cercariana por unidade de pele é assunto de controvérsia. Invasão maciça de cercárias faz com que elas fiquem mais gregárias, tendendo a alterar o tipo de penetração e aumentando a intensidade do comportamento invasivo (Griffiths, 1953; Stirewalt & Fregeau, 1965). As seguintes situações ideais são sugeridas para se obter uma boa infecção cercariana: manter a água desclorada a 27°C, um período entre a liberação cercariana dos moluscos e a penetração na pele de no máximo três horas e um tempo de exposição de 60 minutos (Barbosa et al., 1978; Campbell & Cuckler, 1961; De Witt, 1965; Olivier, 1966).

TRANSFORMAÇÃO DE CERCÁRIAS EM ESQUISTOSSÔMULOS

Entre uma e três horas após a penetração das cercárias na pele do hospedeiro mamífero, um aumento na temperatura e na osmolaridade inicia uma série de adaptações bioquímicas e morfológicas específicas, que rapidamente preparam os parasitos para sobreviverem ao novo ambiente (Cousin, Stirewalt & Dorsey, 1986; Stirewalt, 1974). Em apenas uma hora, a maior parte do glicocálix é perdida. O tegumento se converte de uma estrutura trilaminada para uma estrutura heptalaminada (nova membrana heptalaminar) (Stirewalt, 1974), bem como ocorre desvio do metabolismo oxidativo para anaerobiose facultativa, com excreção de ácido lático (Coles, 1972). O parasito passa a não mais tolerar a água fresca (Hockley & McLaren, 1973; McLaren, 1980; Stirewalt, 1974).

As cercárias, ao desprenderem seu glicocálix, formam e eliminam microvilos da sua superfície (McLaren, 1980), adquirindo a capacidade de ligar concanavalina A e aglutinina de germe de trigo (Murrel et al., 1978). Três tipos de microvilos podem ser reconhecidos:

- curtos com extremidade apical bulbosa;
- longos e estreitos, com bulbo terminal;
- longos, com aspecto de rosário.

Além dos microvilos, pequenas bolhas esféricas aparecem na superfície larval (McLaren, 1980).

As glândulas pré e pós-acetabulares contribuem para a remoção do glicocálix (McKerrow, 1989; McKerrow & Doenhoff, 1988; Stirewalt, 1974). Os microvilos são formados e eliminados da superfície dos esquistossômulos entre 20 e 90 minutos após a penetração na pele, e têm a função de aumentar a área da superfície da membrana plasmática, possibilitando maior absorção ou secreção de material (Hockley & McLaren, 1973; McLaren, 1980).

Poucas dessas mudanças estão associadas à alteração na expressão gênica, exceto para um aparente aumento na síntese protéica. Nas primeiras 24 horas, a regulação da proteína de choque térmico 70

(HSP = *Heat Shock Protein* 70) parece responder apropriadamente ao choque térmico, advindo do aumento diferencial entre a temperatura da água e a temperatura corporal do hospedeiro. Picos nos níveis de mRNA de HSP 70 estão presentes no novo esquistossômulo transformado. Porém, cercárias e esquistossômulos transformados falham ao produzir muitas proteínas, apesar da disponibilidade de mRNAs correspondentes. Isso sugere que ocorra um bloqueio pós-transcripcional à tradução nesses estágios larvais, que é revertido posteriormente, possibilitando a expressão dos mRNAs disponíveis (Blanton & Licate, 1992).

Do ponto de vista morfológico, esquistossômulos recuperados 24 horas após a infecção apresentam poucas alterações, ao passo que, 48 horas após, se inicia o processo de alongamento e começa a ocorrer regressão dos espinhos tegumentares na parte central do seu corpo, os quais ficam menores e mais dispersos, mantendo-se, contudo, nas extremidades anterior e posterior (Crabtree & Wilson, 1980). Em torno de 72 horas após a infecção, a região central do corpo torna-se quase totalmente despida de espinhos, o tegumento fica repleto de pequenas covas ou reentrâncias e, quando contraído, apresenta a parte central corrugada (Crabtree & Wilson, 1980). Após 40 horas de infecção, as glândulas acetabulares e seus ductos, previamente identificáveis no órgão anterior, desaparecem, o que caracteriza a completa transformação das cercárias em esquistossômulos. A ausência integral dessas glândulas e de seus ductos após esse período implica a manutenção mecânica da migração ou sua manutenção por uma fonte alternativa de secreção lítica. Desse modo, as proeminentes espículas da cabeça possivelmente sejam úteis no friccionamento da membrana basal, embora numerosos grânulos osmiofílicos ainda estejam presentes na glândula da cabeça. Ocasionalmente, tais grânulos são observados entre as células basais da epiderme rompida. Entretanto, não há evidências de que essas secreções causem alguma modificação morfológica das fibras de colágeno da derme e dos fibroblastos localizados logo abaixo dos parasitos. Portanto, embora na penetração as secreções da glândula da cabeça passem para dentro do tegumento na região anterior, seu significado funcional ainda é incerto. Tais secreções possivelmente estão envolvidas no reparo e na reorganização do tegumento anterior, que é danificado durante a penetração, ou na modificação das membranas, que ocorre durante a transformação de cercária em esquistossômulo (Crabtree & Wilson, 1985).

A membrana plasmática heptalaminada tegumentar absorve uma variedade de proteínas do hospedeiro, mascarando o estado de estranheza dos esquistossomos perante o reconhecimento imunológico. Essas proteínas incluem antígenos eritrocíticos (glicolipídeos na forma de antígenos de grupos sanguíneos A, B, H e Lewis) (Goldring et al., 1976), imunoglobulinas (Kemp et al., 1976, 1977; Torpier, Capron & Ouaissi, 1979; Yong & Das, 1983), antígenos principais de histocompatibilidade da classe I (MHC – classe I) (Clegg, Smithers & Terry, 1971; Silva et al., 2003) e β(2)microglobulina (β_2 m) (Torpier, Capron & Ouaissi, 1979), α_{2-} macroglobulina (Damian, Greene & Hubbard, 1973; Kemp et al., 1976), fator de decaimento de C3 (Horta, Ramalho-Pinto & Fátima, 1991), componentes do complemento (Santoro et al., 1980; Tarleton & Kemp, 1981) e moléculas Fc (Loukas et al., 2001).

A saída dos esquistossômulos da derme pode ocorrer pelo sistema venoso (vênulas), mais raramente por capilares venosos dilatados ou por linfáticos ou por ambos os sistemas vasculares (Abboud, Hanna & Ragab, 1971; Miller & Wilson, 1978; Pinto & Almeida, 1945; Standen, 1953, 1971; Stirewalt, 1959). O sistema venoso funciona como a principal rota de evasão dos esquistossômulos da pele para os pulmões e somente uma pequena proporção deles usa a via linfática (Miller & Wilson, 1978; Wheater & Wilson, 1979). Estímulos mecânicos ou líticos, provavelmente provenientes da glândula da cabeça – que ainda

persiste nessa fase – possuem um importante papel na saída da pele. A musculatura apical possivelmente está envolvida no acesso à luz desses vasos. A parede das vênulas e a membrana basal da epiderme são importantes barreiras contra a migração do parasito (Wilson & Lawson, 1980). Bioquimicamente, tais membranas são ricas em colágeno IV, laminina, entactina/nidogênio e perlecan (Haake & Holbrook, 1999; Storm & Elder, 2006).

INVASÃO VASCULAR: SÍTIOS PREFERENCIAIS E POSSÍVEIS MECANISMOS

Os mecanismos pelos quais os esquistossômulos localizam os vasos sanguíneos da pele ainda não foram totalmente elucidados (Wilson, 1987; Wilson & Lawson, 1980). A existência de um gradiente de concentração de glicose, entre os tecidos dérmicos e os capilares sanguíneos, possivelmente influencia a orientação dos esquistossômulos (Grabe & Haas, 2004), que, com 72 horas de infecção, já podem ser observados adjacentes às vênulas ou bem próximos a elas (Crabtree & Wilson, 1985). O tecido adiposo subcutâneo, por exemplo, possui concentração média de glicose de 2,5 mM, enquanto o plasma venoso possui média de 4,7 mM (Tiessen, Rhemrev-Boom & Korf, 2002). A concentração de glicose nos tecidos dérmicos, no entanto, varia, a depender de diversos fatores, mas parece existir um gradiente de concentração entre a mistura de tecidos encontrada pelos esquistossômulos migrantes (células com concentração muito baixa de glicose e fluido intersticial com concentração mais alta) e os capilares sanguíneos (Tirone & Brunicardi, 2001; Zierler, 1999). A quimiorientação dos esquistossômulos em gradientes de glicose, portanto, é muito sensível e específica (Grabe & Haas, 2004), possuindo provavelmente um importante papel adaptativo para evitar a invasão de arteríolas, que portam concentrações maiores de glicose do que as vênulas (cerca de 3%-4% maior), e estimular a entrada em vasos venosos do tecido conjuntivo, cuja concentração de glicose é grosseiramente equivalente à do plasma (Tiessen, Rhemrev-Boom & Korf, 2002). Além disso, peptídeos contendo arginina, como a bradicinina e a fibronectina, também podem contribuir para a localização de vasos sanguíneos (Duncan et al., 2000; Pertilla, Sano & Peltola, 1990; Scicli et al., 1982).

Tal quimiorientação em gradientes de glicose, portanto, direcionaria os esquistossômulos para os vasos sanguíneos, já que o sangue rico em glicose (4-5 mM) pode gerar gradientes de concentração nos tecidos circundantes aos vasos. Da mesma forma, os gradientes de L-arginina podem também possuir um papel importante na localização dos vasos, já que a concentração de L-arginina aumenta de 13 μM, na superfície da pele (Haas et al., 2002), para 40-140 μM, no sangue, ou 100-1.000 μM, nas células endoteliais (Harrison, 1997). Os esquistossômulos poderiam, então, se orientar particularmente para as vênulas, pois o sangue venoso possui um maior conteúdo de arginina do que o sangue arterial (Kowalski, Wu & Watford, 1997).

Nessas regiões onde os esquistossômulos penetram nos vasos sanguíneos, os tecidos conjuntivos da derme e da hipoderme se mostram extremamente hemorrágicos. O infiltrado inflamatório na derme apresenta-se organizado em discretos focos, embora não haja evidências de danos nos esquistossômulos pela resposta leucocitária do hospedeiro nesse estágio. A área apical lisa desses vermes apresenta configuração bastante variada: protuberâncias geralmente invertidas em esquistossômulos da derme e da epiderme podem ocasionalmente ficar direcionadas para a parede endotelial das vênulas. Alguns esquistossômulos desencadeiam reações de coagulação, podendo ser parcialmente rodeados por fibrina e plaquetas em diferentes estágios de desgranulação sem necessariamente ocorrerem modificações na membrana basal

das vênulas, ou podem causar a completa ruptura da parede endotelial, mobilizando uma série de plaquetas, que se emaranham por entre a fibrina e fragmentos tumefeitos do endotélio. Numerosos grânulos osmiofílicos pequenos, provavelmente da glândula da cabeça, estão presentes nos canais citoplasmáticos que se estendem na área apical anterior. Contudo, somente poucos desses grânulos podem ser realmente observados no tegumento dessa região (Crabtree & Wilson, 1985).

Já com 96 horas de penetração, a distribuição dos esquistossômulos e a aparência da derme e da hipoderme continuam essencialmente similares ao período anterior. Diversos focos inflamatórios, com um espaço central vazio, podem, no entanto, ser observados na derme e na hipoderme. Esses focos, por sua vez, não exibem correlação espacial com os poucos esquistossômulos restantes. A derme ainda se mostra extremamente hemorrágica nesse estágio. Pelo período de 120 horas, os poucos esquistossômulos ainda dentro da pele ficam largamente distribuídos na derme e na hipoderme. A pele encontra-se muito menos hemorrágica e a atividade fibroblástica dentro dos focos inflamatórios indica a ocorrência de cicatrização. Diversas células plasmáticas e monócitos ficam evidentes no tecido conjuntivo da derme e da hipoderme (Wheater & Wilson, 1979).

Ao fim da fase de migração pela pele, não há evidências de destruição dos esquistossômulos por alguma resposta inflamatória tecidual do hospedeiro, mesmo que esta esteja evidente. Tal resposta inflamatória pode ser provocada por algum dano lítico tecidual produzido durante a penetração ou por alguma hemorragia causada pela entrada dos vermes nos vasos sanguíneos. A resposta inflamatória na pele do hospedeiro poderia, portanto, facilitar a migração subseqüente dos esquistossômulos em direção aos vasos sanguíneos (Miller & Wilson, 1978). Em bolsa de hamsters cronicamente infectados (Crabtree & Wilson, 1984) observaram infiltrado predominantemente macrofágico e neutrofílico, próximo aos esquistossômulos, nas primeiras 48 horas após a infecção. Às 78 horas, eosinófilos predominaram sobre neutrófilos. Às vezes, material elétron-denso era visto entre os eosinófilos aderentes e a superfície tegumentar dos esquistossômulos. A resposta cutânea inflamatória a infecções secundárias parece decorrer da combinação de reação não específica a danos mecânicos provocados pelos parasitos invasores e reação secundária imunologicamente mediada (Bentley, Carlisle & Phillips, 1981).

Migração pelos Linfonodos

A via linfática de saída dos esquistossômulos da derme constitui uma rota alternativa de evasão, utilizada por aproximadamente 1,25%-15% dos esquistossômulos, em murinos (Gui et al., 1995; Riengrojpitak, Anderson & Wilson, 1998; Wilson, Coulson & Dixon, 1986), e por menos de 1%, em babuínos (*Papio anubis*) (Pearce & McLaren, 1986). Trabalhos utilizando bolsas de hamsters sugerem que a via linfática tem importância secundária na evasão dos esquistossômulos da pele (Miller & Wilson, 1978). A menor importância dos vasos linfáticos na evasão das larvas a partir da pele pode ser determinada pelo número menor desse tipo de vasos quando comparado com o grande número de vasos sanguíneos presentes na derme. Assim, a localização de um vaso sanguíneo seria, por si só, favorecida pela sua ampla distribuição anatômica. Além disso, a vasodilatação ocasionada a partir de uma reação inflamatória persistente na derme – observada geralmente a partir de 24 horas após a infecção – também aumentaria a probabilidade de penetração em vasos sanguíneos (Wheater & Wilson, 1979).

Os esquistossômulos atingem os linfonodos regionais da pele a partir do segundo dia de infecção, ali permanecendo pelos próximos cinco ou seis dias, não sendo mais identificados no 11º dia (Gui et al., 1995; Lozzi et al., 1996; Wheater & Wilson, 1979). Um acúmulo significativo de esquistossômulos ocorre em linfonodos axilares de camundongos, infectados pela pele abdominal, entre os dias três e seis, com pico no quarto dia (Georgi, Wade & Dean, 1987). Os esquistossômulos, através de linfáticos aferentes, são lançados nos seios marginais subcapsulares e, para atingirem os seios medulares e vasos hilares eferentes, ultrapassam uma malha de trabéculas ao nível da cortical (Miller & Wilson, 1978; Wheater & Wilson, 1979). Sua chegada nos seios marginais e no parênquima dos linfonodos não resulta em qualquer redistribuição perceptível de células apresentadoras de antígeno ou em agregação celular em volta das larvas retidas (Riengrojpitak; Anderson & Wilson, 1998). Esquistossômulos podem, eventualmente, penetrar no sistema vascular sanguíneo através de veias dos cordões medulares (Faust, Jones & Hoffman, 1934; Koppisch, 1937; Lozzi et al., 1996). O peso dos linfonodos aumenta durante os primeiros seis dias de infecção (Gui et al., 1995).

Em observações ultra-estruturais realizadas em experimentos com cercárias atenuadas pela exposição a 200 Gy de irradição gama, a chegada dos esquistossômulos em linfonodos ocorre também via vasos linfáticos aferentes. Os esquistossômulos, inicialmente, se localizam nos seios subcapsulares a partir do quinto dia pós-exposição. Depois, migram em direção às áreas paracorticais (linfócitos T) e, finalmente, à região medular. As larvas localizadas nas regiões periféricas dos linfonodos estão intimamente associadas com uma mistura de linfócitos e células acessórias, como células dendríticas e macrófagos com capacidade de apresentar antígenos. Tais células exibem vesículas endossomais em seu citoplasma, algumas contendo restos celulares ingeridos. Parasitos localizados mais profundamente no paracórtex do linfonodo, por sua vez, são encontrados na proximidade de linfócitos. No entanto, ao contrário da região periférica, tais parasitos parecem exercer um efeito destrutivo nas células circundandes, provavelmente devido ao seu tamanho e forte musculatura. A região adjacente à superfície dos parasitos se encontra envolta por células deformadas e rompidas, e detritos celulares vesiculares estão dispersos no espaço intersticial. Em nenhum momento foi evidenciada lesão interna ou tegumentar nos esquistossômulos atenuados (Riengrojpitak, Anderson & Wilson, 1998).

MIGRAÇÃO PELOS PULMÕES

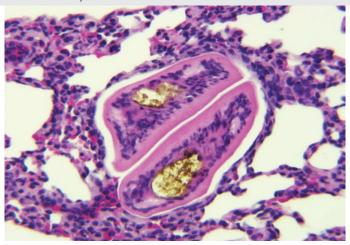
Após acessarem o sistema circulatório, seja venoso ou linfático, os esquistossômulos são carregados pelo fluxo sanguíneo venoso para o lado direito do coração, sendo então distribuídos, assincronicamente, para os pulmões, via artéria pulmonar. O número de esquistossômulos dentro dos capilares pulmonares aumenta significativamente entre o segundo e o sétimo dias após a infecção, o que gera diminutas hemorragias (Pinto & Almeida, 1948). O pico de permanência dos parasitos varia de acordo com o modelo experimental utilizado: no quinto dia após a infecção, em hamsters e ratos; no sexto dia, em camundongos. Daí em diante, o número de esquistossômulos nos pulmões começa a declinar de modo quase exponencial, até o 18º dia em ratos, até o 20º dia em hamsters e até o 22º dia em camundongos, quando não são mais recuperados esquistossômulos no pulmão (Miller & Wilson, 1980; Wheater & Wilson, 1979). O pico de esquistossômulos pulmonares variou com o inóculo cercariano, sendo mais precoce (no quinto dia) com 440 cercárias (60,2% de recuperação) e, entre o sétimo e o oitavo dias, com 65 cercárias (58,2% de recuperação) (Barbosa et al., 1978).

No modelo camundongo, esquistossômulos, ainda que em menor número, podem ser recuperados após períodos mais longos de infecção, como 67 e 46 dias, em infecções com 65 e 440 cercárias, respectivamente (Barbosa et al., 1978). A longa permanência de esquistossômulos em pulmões foi também referida por outros autores (Clegg, 1965; Faust, Jones & Hoffman, 1934; Olveda, Olds & Mahmaoud, 1981; Wilks, 1967; Yolles, Moore & Meleney, 1949). No babuíno (*Papio anubis*), a fase pulmonar é mais rápida que no camundongo e, no 12º dia, poucos parasitos ainda permanecem nos pulmões. Isso demonstra que os pulmões daquele primata dificultam menos a migração de esquistossômulos que os pulmões de camundongo (Wilson et al., 1990). O aumento do número de esquistossômulos, em camundongos, dentro dos capilares pulmonares, entre os dias dois e sete após a infecção, indica a efetividade da vasculatura pulmonar como barreira física para a migração. Ali, os esquistossômulos, para poderem lidar com o diminuto calibre dos capilares, alongam o corpo consideravelmente, embora uma pequena percentagem deles possa evitar a rede capilar pulmonar utilizando anastomoses arteriovenosas (Wheater & Wilson, 1979).

Nos capilares pulmonares, os esquistossômulos perdem a camada intersticial fibrosa subtegumentar e parte da musculatura anterior, por desintegração e desaparecimento. O tegumento continua crivado de pequenas covas ou reentrâncias e, dependendo do grau de extensão corporal, exibe pregas e sulcos. Quando o corpo se encontra completamente distendido, isto é, quando atinge o menor diâmetro, os sulcos ou depressões ficam menos proeminentes, aparecendo como constrições anelares. Pelo quarto dia pós-infecção, a porção média do corpo se apresenta virtualmente sem espinhos (Crabtree & Wilson, 1980). Os esquistossômulos da pele, no terceiro dia, medem 170 μm de maior comprimento, com a média do raio (no comprimento máximo) de 10 μm, volume de 5,31 x 10^4 μm^3 e área da superfície do cilindro de 1,0682 x 10^4 μm^2, enquanto os esquistossômulos pulmonares, no oitavo dia de infecção, atingem 400 μm de comprimento máximo, com raio de 6,5 μm (no comprimento máximo), volume de 5,31 x 10^4 μm^3 e área da superfície de 1,6328 x 10^4 μm^2 (Crabtree & Wilson, 1980; Wilson et al., 1978). Portanto, mesmo em um estado metabólico semiquiescente (Cousin, Stirewalt & Dorsey, 1986), os esquistossômulos pulmonares chegam a ultrapassar, em até quatro vezes, o comprimento dos esquistossômulos da pele, e o seu diâmetro pode chegar a apenas oito μm, que equivale, aproximadamente, ao tamanho dos menores capilares pulmonares, pelos quais devem rastejar para atravessá-los (Basch & Samuelson, 1990). Dessa forma, o alongamento corporal facilita uma rápida migração através dos capilares sanguíneos (Crabtree & Wilson, 1985; Wilson et al., 1978). A passagem dos esquistossômulos pelos pulmões é, portanto, delongada temporariamente, até que atinjam as dimensões apropriadas para a migração intravascular (Crabtree & Wilson, 1985).

Durante a fase intrapulmonar, há também uma íntima aposição entre o endotélio e as membranas tegumentares do parasito, o que possibilita a transferência, a partir do endotélio, para a superfície dos esquistossômulos, de antígenos da Classe I do Complexo Principal da Histocompatibilidade, não originados de tecido hematopoético (Crabtree & Wilson, 1985; Sher et al., 1984). Em estudo ultra-estrutural em pulmões de camundongos com sete dias de infecção, os organismos intravasculares apresentavam um diâmetro médio transversal de 20 μm. Os esquistossômulos se encontravam livres dentro da luz vascular, circundados por plasma e células sanguíneas circulantes. O revestimento endotelial adjacente estava intacto, apresentando, às vezes, reentrâncias provocadas pela pressão de espinhos tegumentares de esquistossômulos adjacentes (Bruce et al., 1974). A densidade de esquistossômulos no pulmão declina a partir do sétimo dia e a relativa escassez de esquistossômulos dentro de vasos pulmonares maiores

provavelmente reflete a sua rápida migração desses vasos (Wheater & Wilson, 1979). A migração através da circulação pulmonar ocorre na ausência de resposta perceptível por parte do hospedeiro (Wheater & Wilson, 1979). É geralmente admitido que, enquanto nos pulmões, esquistossômulos não se alimentam de sangue. Porém, uma percentagem variável de 4% a 20% de esquistossômulos exibiu, entre sete e dez dias de infecção, digestão de sangue, e houve dois esquistossômulos que chegaram até a atingir o quarto estágio de desenvolvimento (= parte posterior do ceco reconectada, sem ultrapassar o comprimento do ceco bifurcado) (Barbosa et al., 1978). Esse fenômeno foi também evidenciado em pequeno número de esquistossômulos pulmonares, entre os dias oito e 14 da infecção, baseado na detecção de grânulos marrons pálidos, amarelados ou escuros, correspondendo, aparentemente, a pigmentos derivados de hemoglobina (Bruce et al., 1974). Eventualmente, fêmeas maduras escapam da circulação mesentérica e se alojam em vasos pulmonares, tendo um destino incerto (Figura 4).

Figura 4 – Fêmea(s) adulta(s) de *Schistosoma mansoni* no interior de vaso pulmonar de camundongo *Swiss Webster*, sem estar circundada(s) por reação inflamatória, exibindo pigmento esquistossomótico no lúmen intestinal (Hematoxilia-Eosina)

VIAS DE MIGRAÇÃO DOS PULMÕES PARA O SISTEMA PORTA-HEPÁTICO

O desenvolvimento dos esquistossômulos completa-se nos vasos intra-hepáticos, onde se acumulam lentamente, havendo um evidente assincronismo no desenvolvimento dos vários exemplares, podendo ser encontrados vermes jovens ao lado de espécimes adultos, durante vários dias, entre o quarto e o 23º dias (Coelho, 1970; Faust, Jones & Hoffman, 1934). O acúmulo de parasitos no fígado segue um padrão sigmóide no camundongo, atingindo um platô ao redor do 20º dia de infecção, momento em que 37% dos parasitos que atingem a maturidade ali aportam (Miller & Wilson, 1980).

O trajeto que os esquistossômulos seguem do pulmão até as veias do sistema porta-hepático tem sido motivo de longas controvérsias. Três vias (ou modelos de migração) pulmão-fígado foram postuladas:

- intravascular direta, sem recirculação (modelo vascular passivo) (Miyagawa, 1912; Miyagawa & Takemoto, 1921). Os esquistossômulos, após saírem dos capilares arteriais e atingirem o compartimento

venoso do pulmão, seriam transportados passivamente através do coração para a aorta, e daí para o sistema porta-hepático através das artérias hepáticas ou mesentéricas. Alguns autores propuseram uma variante para esta hipótese, rotulada por nós de intravascular direta, com recirculação (Faust, Jones & Hoffman, 1934; Miller & Wilson, 1980; Wilson, Coulson & Dixon, 1986; Wheater & Wilson, 1979), largamente aceita e bem documentada pela literatura. Segundo esses autores, antes de os esquistossômulos entrarem, ao acaso, em artérias que derivam no sistema porta-hepático, eles transitariam através da circulação pulmonar-sistêmica. Essa concepção implica também que os esquistossômulos sejam seqüestrados dentro do sistema porta-hepático ao perderem a habilidade para ultrapassar o leito capilar, no caso, os sinusóides hepáticos (Miller & Wilson, 1980). Essa via será mais detalhada posteriormente;

- intravascular reversa (modelo vascular ativo) (Kruger et al., 1969). Essa hipótese propõe que, após os esquistossômulos atingirem os pulmões, eles mudariam de direção e migrariam, contra a corrente sanguínea, através da artéria pulmonar, ventrículo e átrio direitos, veia cava posterior e penetrariam no fígado pelas veias hepáticas;
- transdiafragmática (modelo transdiafragmático) (Bruce et al., 1974; Narabayashi, 1914; Pereira et al., 1972; Wilks, 1967). Através dessa via, os esquistossômulos escapariam dos capilares pulmonares para os alvéolos, migrariam, através do tecido pulmonar, para caírem na cavidade pleural e atravessariam o diafragma e a cápsula hepática, atingindo, eventualmente, os vasos portais intra-hepáticos.

Parece que todas as vias (ou modelos) podem, na prática, ser utilizadas pelo parasito, embora a via intravascular direta ou passiva, com recirculação, seja a preferencial e a melhor comprovada (Georgi, Wade & Dean, 1987; Miller & Wilson, 1980; Wheater & Wilson, 1979; Wilson, Coulson & Dixon, 1986). Estudos histológicos favorecem inteiramente a migração intravascular (Wheater & Wilson, 1979). A saída dos parasitos do pulmão através do sistema venoso pulmonar tem sido demonstrada por vários estudos com camundongos e coelhos (Faust, Jones & Hoffman, 1934; Faust & Meleney, 1924; Koppisch, 1937; Miyagawa & Takemoto, 1921; Tang, Tang & Tang, 1973; Yolles, Moore & Meleney, 1949). Pelas veias pulmonares, os vermes são arrastados até as câmaras esquerdas cardíacas e daí são bombeados para a aorta. Da aorta podem ingressar no sistema hepático portal por duas vias principais: a artéria hepática (ramo do tronco celíaco, juntamente com a esplênica e a gástrica esquerda), as artérias mesentéricas (superior e inferior) e outras artérias que suprem o trato gastrointestinal (Wheater & Wilson, 1979). Em ratos em repouso, até 3% do rendimento cardíaco são direcionados para a artéria hepática e 13%, para artérias do intestino (Blahitka & Rakusan, 1977). Portanto, um verme individual tem até 16% de chance de atingir o sistema portal hepático após sair do ventrículo esquerdo. Como corolário, tem 84% ou mais de chance de ser distribuído no restante da circulação sistêmica. Tal esquistossômulo, portanto, deve realizar vários circuitos nas circulações pulmonar e sistêmica antes de conseguir, aleatoriamente, ingressar nos vasos que o levarão para o sistema portal hepático. Esse esquema de migração supõe que os esquistossômulos sejam capazes de migrar através do leito capilar sistêmico para retornar à circulação venosa, pulmões e lado esquerdo do coração para posterior redistribuição. Ele também presume que os tratos portais do fígado atuem como barreira para subseqüente distribuição dos vermes (Wheater & Wilson, 1979). A ocorrência de uma fase de migração sistêmica explica a pobre correlação temporal observada entre o declínio no número de esquistossômulos presentes nos

pulmões e a chegada de esquistossômulos no fígado (Wheater & Wilson, 1979; Yolles, Moore & Meleney, 1949). De fato, o acúmulo de esquistossômulos nos rins, cérebro, músculo cardíaco, capilares do diafragma, aparelho geniturinário e carcaça, em geral, durante o período do pico migratório entre os pulmões e o sistema porta-hepático, com subseqüente decréscimo no número de parasitos nesses órgãos, reforça a idéia de que os esquistossômulos recirculam em vasos sistêmicos e pulmonares (Georgi, Wade & Dean, 1987; Wheater & Wilson, 1979). A detecção de lesões ectópicas em esquistossomose humana é uma evidência indireta da ocorrência da fase sistêmica da migração (Faust, 1948; Kane & Most, 1948). É possível que esquistossômulos fiquem seqüestrados em algum ponto da circulação e falhem em retornar para os pulmões para serem redistribuídos (Wheater & Wilson, 1979). É importante destacar que esquistossômulos, a partir do 10º dia de infecção, foram observados dentro de vênulas mesentéricas (Wheater & Wilson, 1979).

Foi estimado o tempo de trânsito que os esquistossômulos dispendem nos diversos circuitos circulatórios após deixarem o ventrículo esquerdo: capilares intestinais ($t_{1/2}$ = 6,5h); carcaça, rins, cérebro, órgão menores ($t_{1/2}$ = 16h); pulmões ($t_{1/2}$ = 30-35h) (Wilson, Coulson & Dixon, 1986). Após a penetração cutânea, cada esquistossômulo tem a probabilidade (P) de 0,33 de amadurecer no sistema porta-hepático de um camundongo normal. Se a probabilidade (P) de ingressar em uma artéria esplâncnica é de 0,32 e de ser retido no fígado é de 0,72-0,86, então a probabilidade (P) de um parasito tornar-se parte da população hepática em cada circuito da vasculatura é de 0,23-0,27 (Wilson & Coulson, 1986). Baseado nisso, somente duas ou no máximo três passagens de esquistossômulos ao redor da circulação pulmonar-sistêmica são suficientes para gerar a população de vermes adultos (Wilson, Coulson & Dixon, 1986). Considerando um tempo de trânsito de 35h + 16h (Wilson & Coulson, 1986), três passagens ou ciclos levariam de seis a sete dias para serem efetivados (Wilson, Coulson & Dixon, 1986).

Como explicar a parada dos esquistossômulos nos vasos portais? Os altos níveis de nutrientes nesses vasos e estreiteza dos sinusóides hepáticos podem, ambos, contribuir para esse evento (Khammo et al., 2002; Wilson et al., 1978). Através de microscopia *in vivo*, foi constatado que todos os esquistossômulos hepáticos tinham pigmento em seu ceco e alojavam-se em vênulas interlobulares portais, cujos diâmetros mediam 40-175 μm (os vasos com 40 μm estavam a 30-50 μm distantes do bordo hepático). Nesses vasos, os vermes estavam ou presos à parede vascular pela ventosa ventral, ou encravados nos vasos, ou intermitentemente livres na corrente sanguínea, e nunca entravam nos sinusóides (Bloch, 1980).

Em *Calomys callosus* (Rodentia: Cricetidae), em cortes histológicos, foram vistos vermes juvenis em vênulas portais a partir do primeiro dia do estudo (20º dia). Entre o 22º e o 23º dias, os vermes juvenis passaram a agrupar-se na veia porta intra-hepática, mostrando início de acasalamento. Vermes adultos acasalados foram observados no 26º dia. Os primeiros ovos embrionados começaram a aparecer em vênulas intra-hepáticas, na submucosa do intestino delgado e grosso, no 31º de infecção. Ovos de quarto estágio e maduros, com miracídio, foram observados pela primeira vez no 34º dia, no fígado, e no 45º dia, no intestino. No pâncreas, ovos embrionados foram vistos pela primeira vez no 32º dia, em vênulas intralobulares, e ovos maduros apareceram no 37º dia (Lenzi JA, 1998). Em camundongos *Swiss Webster*, no 25º dia de infecção, surgiram, pela primeira vez, pares acasalados de vermes adultos em veias portais do hilo hepático. No 30º dia pós-infecção, ovos imaturos foram evidenciados em vênulas intra-hepáticas. Um dia depois, ovos imaturos apareceram em vasos submucosos do intestino e, no 33º dia, foram também detectados em vênulas pancreáticas intralobulares. Ovos maduros foram vistos pela primeira vez, em fígado, no 35º, e em pâncreas e intestino, no 36º dia (Lenzi JA, 1998).

Por microscopia *in vivo,* em camundongo, foi observado que vermes isolados ou acasalados, localizados na veia porta e em vários ramos da veia mesentérica superior, moviam-se de modo ondulante contra o fluxo (migração contracorrente). Assim que os vermes adentravam nas veias e vênulas que tinham diâmetros equivalentes aos seus, eles se alongavam suficientemente para penetrar em vênulas murais do intestino, localizadas próximas à junção do mesentério (Bloch, 1980). Os vermes não parecem ficar alojados no mesmo lugar, mas vagueiam por vários sítios justaintestinais, mesmo acasalados, depositando ovos principalmente entre o 20º cm a partir do piloro e a primeira metade do intestino grosso (Pellegrino & Coelho, 1978; Valadares et al., 1981). Quando todo o ciclo de vida de *S. mansoni* foi realizado em condições assépticas, camundongos livres de germes infectados apresentaram muito mais ovos no fígado e no intestino, aos 61º e 84º dias de infecção, que camundongos convencionais (Bezerra et al., 1985).

Por que os esquistossomos acabam residindo nos vasos sanguíneos do fígado? Parece que a tolerância imunológica induzida nesse sítio traz vantagens para os parasitos (Modha et al., 1998). De fato, estudos têm demonstrado que a injeção intraportal de células despedaçadas de um doador antes de um enxerto de pele prolonga significativamente a sobrevida do enxerto no recipiente (Dumont, 1978). A administração de ovos de esquistossomo em veia portal também induziu tolerância, avaliada pela reação de hipersensibilidade em pata de camundongo e na formação de granulomas. Células de Kupffer parecem estar envolvidas nesse mecanismo (Cuison et al., 1995).

A capacidade de migração de esquistossômulos em diferentes estágios de maturação foi avaliada em esquistossômulos recuperados da pele (larvas de uma hora de idade), de pulmões (cinco dias) e do fígado (11 dias) de hamsters experimentalmente infectados com cepa LE de *S. mansoni*, proveniente de Belo Horizonte, Minas Gerais. Os esquistossômulos foram injetados intraperitonealmente em camundongos, com número variando de 120 (pele), 200 (pulmões) a até 300 (fígado) organismos por animal. Os animais foram sacrificados quando as larvas derivadas de hamsters atingiram 35 dias. As percentagens de larvas encontradas vivas dentro do sistema porta-hepático dos camundongos foram de 43,1 (pele), 32,5 (pulmões) e 15,4 (fígado), indicando que a capacidade migratória de esquistossômulos decresce com a idade das larvas (Coelho et al., 1976a). Outro estudo, confirmando os dados anteriores, utilizou camundongos albinos inoculados pela via subcutânea ou intraperitoneal com esquistossômulos retirados dos pulmões (quatro dias após a exposição cercariana) ou do fígado (dez e 20 dias) e avaliou a capacidade de migração das larvas no período de dois a três meses após a inoculação. A migração ocorreu com larvas de quatro e de dez dias, em ambas as vias de inoculação. Com larvas de 20 dias, somente um animal em dez apresentou vermes adultos no sistema porta (apenas um par de vermes) quando a inoculação ocorreu por via subcutânea, não sendo identificado nenhum verme naqueles inoculados por via intraperitoneal (Pereira et al., 1972). Em hamsters infectados intraperitonealmente com 40, 80 e 160 cercárias (cepa LE) foi observado que o comprimento das fêmeas diminui significativamente ($p<0,05$) em função da densidade populacional dos parasitos (Coelho et al., 1976b).

O percentual de recuperação total de vermes adultos em *C. callosus*, em dois experimentos, variou de 14,3 a 38,6% (45 dias); 15,7 a 20% (90 dias) e 4,3 a 20% (160 dias). A recuperação, em *Swiss Webster*, variou de 24,3 a 73,8% (45 dias); 11,4 a 24,3% (90 dias) e 8,6 a 27,1% (160 dias) (Lenzi JA, 1998). O percentual de recuperação variou, conforme outros autores e outros modelos: em camundongo, 63,4% (infecção com 65 cercárias – 53 dias de infecção) e 49,7 % (com 440 cercárias – 42 dias de infecção)

(Barbosa et al., 1978), 20% (Brenner, 1962; Clegg, 1965; Standen, 1949), 22,3% (Pellegrino & Katz, 1969), 28,3 a 39,9% (Saoud, 1966), 34,3% (Grimaldo & Kershaw, 1961), 24,4 a 48,2% (Smithers & Terry, 1965) e 36,9 a 39,5% (Warren & Peters, 1967); em *Nectomys squamipes*, 10% (Rodrigues-Silva, 1989), 65,5% (Antunes, 1971) e 21,5% (Borda, 1972). A proporção macho para fêmea apresentou um declínio, no transcurso da infecção, em ambos os grupos de animais, indo, em *C. callosus*, de 2,3:1 (45 dias), para 1,3:1 (90 dias) e 1:1 (160 dias). Em *Swiss Webster*, variou de 1,8:1 (45 dias), para 1,7:1 (90 dias) e 1,2:1 (160 dias) (Lenzi, 1998).

SÍTIOS DE ATRITO E DE ELIMINAÇÃO DO PARASITO

Durante todas as fases de migração, os parasitos estão sujeitos a inúmeras influências ambientais, provenientes do seu hospedeiro. A resposta imunológica está intimamente envolvida com sua eliminação, bem como o desenvolvimento de diversas modificações patológicas que acompanham a infecção e, de alguma forma ainda não compreendida, o amadurecimento e a fecundidade dos esquistossomos. Tanto a mortalidade, quanto a reabsorção de esquistossômulos migrantes, ou ainda a possível eliminação desses para fora do organismo hospedeiro podem ser acompanhadas indiretamente pelo decréscimo exponencial do número de focos autorradiográficos nos órgãos que não o fígado (Coulson & Wilson, 1988; Dean et al., 1987; Georgi, Wade & Dean, 1987). Tal ausência de evidência direta a respeito do destino exato dos equistossômulos é conhecida como 'atrito' (do inglês *attrition*) (Georgi, Wade & Dean, 1986). Os sítios de atrito e de eliminação parecem variar, conforme o animal seja imune ou não-imune. Todavia, como os dados de literatura sobre este assunto são divergentes e, às vezes, até contraditórios (Dean et al., 1987), há que se salientar apenas os aspectos mais relevantes e mais bem comprovados.

Em animais não-imunes, 90% ou mais dos parasitos penetrantes na pele atingem, eventualmente, os pulmões (Mangold & Dean, 1983). No entanto, o fato de que o número de esquistossômulos detectados no fígado, no 21º dia de infecção, costuma ser consideravelmente menor do que o que aparece nos pulmões no 6º dia e o número que desaparece do pulmão entre os dias seis e 21, sugere que a maior parte do atrito de uma infecção inicial ocorre em algum ponto após a chegada dos parasitos ao pulmão (Dean et al., 1984). Esses dados indicam que a pele não é o sítio principal de eliminação, em camundongos primo-infectados (Dean et al., 1984; Georgi, Dean & Mangold, 1983). Um aumento da resistência inata à infecção foi parcialmente atribuído a uma maior densidade da derme em camundongos idosos (Lewert & Mandlowitz, 1963), embora alguns autores discordem da influência do estado da matriz extracelular da derme como um fator determinante do número de parasitos que se evadem da pele (Clegg & Smithers, 1968). Porém, o estado da matriz extracelular deve interferir na migração do parasito, pois tanto as cercárias como os esquistossômulos secretam, entre várias enzimas, uma serina protease capaz de fragmentar queratina, colágeno dos tipos IV e VIII, proteoglicano, fibronectina, laminina e elastina (Newport et al., 1987).

A penetração cercariana na pele pode ser alterada por outros fatores, tais como: a produção de eicosanóides pelas próprias cercárias e pela pele; os níveis de ácidos graxos na superfície da pele; a relação da produção dermo-epidérmica de eicosanóides (Fusco et al., 1988) e a distribuição e densidade de células de Langerhans na pele (Gebara et al., 1986). Em animais imunes, costuma ocorrer retardo da migração dos parasitos da pele para os pulmões, maior retenção nos pulmões e desaparecimento de larvas em algum ponto após a chegada aos pulmões e antes do aparecimento no fígado (Dean et al., 1987). Em relação à pele como sítio de atrito, os dados da literatura mostram diferenças significativas, atribuídas a

condições experimentais peculiares, aos esquemas de imunização, ao hospedeiro e às cepas ou isolados de *S. mansoni* utilizados (ver revisão em Dean et al., 1987). Alguns autores admitem que, ao nível da pele, animais infectados apresentem duas fases distintas de atrito, uma precoce e outra tardia, sendo a primeira dependente da oviposição (Smithers & Gammage, 1980). De qualquer forma, a pele é uma barreira à migração subseqüente: o parasito necessita 'negociar' a sua passagem. Para o hospedeiro, contudo, a pele é a primeira oportunidade para o reconhecimento do invasor pelo sistema imunológico (Mountford & Trottein, 2004). Discute-se ainda a possibilidade de eliminação de esquistossômulos vivos através da árvore traqueobronqueal e do aparelho gastrointestinal, e, mais raramente, dos glomérulos e túbulos renais (Bruce et al., 1974; Coulson & Wilson, 1988; Dean et al., 1987; Georgi, Wade & Dean, 1987).

No entanto, a passagem de ovos para a luz intestinal é fornecida por produtos de eosinófilos e/ou macrófagos periovulares que destroem as fibras da matriz extracelular e corroem a membrana basal do epitélio, criando túneis ou passagens, na mucosa, que permitem a ejeção passiva dos ovos pelos movimentos intestinais peristálticos (Lenzi, Lenzi & Sobral, 1987). Camundongos infectados por *S. mansoni*, com imunidade comprometida (exemplo: depletados de células $CD4^+$), falham ao eliminar ovos para as fezes (Fallon et al., 2000), bem como pacientes HIV^+, com baixos níveis de células CD4 circulantes, apresentam diminuição na excreção de ovos nas fezes (Karanja et al., 1997). A formação de canais colaterais porto-sistêmicos extra-hepáticos ou o aumento no diâmetro de conexões porto-sistêmicas intra-hepáticas decorrentes da infecção (McHugh, Coulson & Wilson, 1987) podem explicar o encontro freqüente de vermes acasalados em vasos pulmonares em animais com três, quatro e cinco meses de infecção (Awadalla, Sheikh & Farag, 1978).

FASE HEPÁTICA

A chegada dos esquistossômulos no sistema porta-hepático intestinal dá início a mais uma série de eventos decisivos para o desenvolvimento completo dos vermes e, conseqüentemente, para o sucesso reprodutivo da espécie. Uma dramática redução no comprimento máximo dos esquistossômulos – de modo que as suas dimensões não sejam significativamente diferentes daquelas dos esquistossômulos na pele (Wilson et al., 1978) –, bem como a comparativa estreiteza dos sinusóides hepáticos, é determinante para a sua retenção gradual nos ramos venosos mais delgados (Miller & Wilson, 1980), entre o 7º e o 20º dias após a infecção em camundongo (Wheater & Wilson, 1979). Nesse momento, diversos vermes jovens são encontrados ao lado de espécimes adultos (Coelho, 1970; Faust, Jones & Hoffman, 1934; Khammo et al., 2002). No camundongo, o acúmulo de parasitos no fígado segue um padrão sigmóide, como já visto na seção 'Vias de Migração dos Pulmões para o Sistema Porta-Hepático'. Nesse órgão, o crescimento dos vermes é disparado por um mecanismo ainda desconhecido, possivelmente devido a altos níveis de nutrientes no sangue porta-hepático (Khammo et al., 2002; Wilson et al., 1978). Vários conjuntos de dados sugerem que essa aceleração do crescimento se inicia nos esquistossômulos mais avançados, entre os dias 10 e 11 de infecção (Lawson & Wilson, 1980). De fato, o fígado, modernamente, é considerado um órgão com um rico componente neuroendócrino, além de imunotolerante, compondo um ambiente epigenético peculiar para os parasitos (Bowen et al., 2004; Macky, 2002; Roskams et al., 2004).

O desenvolvimento dos esquistossômulos completa-se nos vasos intra-hepáticos do sistema porta. Já com 168 horas, alguns exemplares jovens apresentam sangue ingerido, bem como aumento de seu volume corporal (Pinto & Almeida, 1948). Os vermes se alimentam encarando a direção do fluxo sangüíneo

(Bloch, 1980). Novos espinhos e papilas sensoriais são formados, enquanto a abertura da boca se desenvolve com a formação da ventosa oral (Crabtree & Wilson, 1980). Por sua vez, a presença dos parasitos nas vênulas interfere no fluxo sanguíneo, não apenas nos vasos ocupados, mas também nos sinusóides adjacentes. Os vasos se dilatam, apresentando marginação leucocitária, deposição de pigmentos sanguíneos nas células de Kupffer e estase, o que resulta em necrose dos hepatócitos circundantes (Bloch, 1980). Na terceira semana após a infecção, os esquistossômulos migram para as veias mesentéricas, onde geralmente ocorre o acasalamento (Armstrong, 1965; Pinto & Almeida, 1948). Em babuínos, o acúmulo de parasitos no fígado ocorre pelo nono dia de infecção (Wilson et al., 1990), enquanto em camundongos, vermes acasalados nas veias mesentéricas podem ser observados a partir do 27º dia de infecção, enquanto a oviposição tem início entre o 30º e o 34º dias. Os primeiros ovos maduros começam a surgir, no fígado e no intestino, entre o 34º e o 36º dias (Brenner, 1956; Lenzi JA, 1998; Prata, 1957).

O amadurecimento sexual e a posterior manutenção desse estado na fêmea de esquistossomos, portanto, têm início a partir da chegada do esquistossomo no sistema porta-hepático intestinal (Armstrong, 1965; Pinto & Almeida, 1948), sendo altamente dependente do íntimo contato da fêmea com o verme macho (Armstrong, 1965; Clough, 1981; Perez & Smithers, 1977; Popiel & Basch, 1984a) (ver revisões de Ribeiro-Paes & Rodrigues, 1997 e Moné & Boissier, 2004), que a mantém em seu canal ginecóforo, auxiliando-a na digestão do sangue e no transporte para os sítios de postura dos ovos. O pareamento entre vermes de diferentes sexos é, portanto, um pré-requisito para o amadurecimento da fêmea (Standen, 1953; Vogel, 1941). No entanto, como observado em infecções unissexuais, o amadurecimento sexual do macho – com a produção de espermatozóides – ocorre na ausência da fêmea (Brumpt, 1936).

A aparente monogamia dos esquistossomos favorece uma redução na possível competição sexual entre os machos, além de garantir a paternidade. Ao fazer isso, o macho possibilita que a fêmea invista mais na produção dos ovos (Morand & Muller-Graf, 2000) e, com isso, no sucesso reprodutivo da espécie. De fato, os esquistossomos não são tão monogâmicos quanto se pensava, pois em infecções mistas de *S. mansoni* e *S. intercalatum* (Tchuem Tchuenté et al., 1995), na África, onde essas duas espécies podem ser achadas simpatricamente (Tchuem Tchuenté et al., 1993), os machos de *S. mansoni* podem deslocar os machos de seus parceiros homólogos. Em infecções com uma única espécie (*S. mansoni*), a partir da análise de marcadores genéticos de resistência a drogas (Pica-Mattoccia et al., 2000), foi observado que machos sensíveis ao hicantone podem deslocar, de pares pré-formados, machos homoespecíficos resistentes à hicantona, e vice-versa. Embora os vermes não-pareados permaneçam quase que invariavelmente no fígado ou no sínus porta-hepático e os casais migrem do fígado para as veias mesentéricas (Basch, 1991), machos isolados, no transcurso da migração para as veias mesentéricas, podem deslocar machos pareados com suas fêmeas. Provavelmente, esse deslocamento ocorre também no encontro de vermes isolados com casais que retornam periodicamente para o fígado, possivelmente de forma passiva, pela liberação de suas ventosas (Pellegrino & Coelho, 1978).

Não obstante, o papel do macho parece não se resumir somente na atividade muscular, ao auxiliar a digestão da fêmea, como anteriormente postulado (Basch, 1990): além da sua participação na inseminação dos ovócitos, o macho possui uma estreita relação química com a fêmea, influenciando a expressão de genes específicos pelo pareamento (Chen, Rekosh & LoVerde, 1992; Grevelding, Sommer & Kunz, 1997; Koster et al., 1988) e induzindo o seu crescimento (Nirde et al., 1983), bem como a vitelogênese (Hagedorn,

1975; Nirde et al., 1983; Popiel & Basch, 1984a; Shaw, Marshall & Erasmus, 1977). De fato, ambos os sexos estão em constante interação química, sendo esta bidirecional e desigual (Haseeb & Eveland, 1991; Haseeb, Fried & Eveland, 1989; Popiel & Basch, 1984b; Silveira, Friche & Rumjanek, 1986). O estímulo específico responsável para o amadurecimento da fêmea, todavia, ainda não é completamente conhecido, podendo inclusive ser uma combinação desses diversos fatores e ainda outros, como hormônios, nutrientes, neuromediadores e mera estimulação táctil (Ribeiro-Paes & Rodrigues, 1997).

Os vermes adultos vivem em íntimo contato com o endotélio vascular (Figuras 5 e 6), sem entretanto induzir o fenômeno de coagulação (Lenzi, Sobral & Lenzi, 1988) – sem dúvida, uma notável aquisição e estratégia (Capron, 1992), devido a sua considerável biomassa. De que forma então os vermes de *S. mansoni* evitam a coagulação sanguínea? No tegumento de machos adultos é encontrada calicreína – uma precursora de bradiquinina, um vasodilatador (Carvalho et al., 1998) –, bem como apirase, uma ATP-difosfohidrolase envolvida com agregação plaquetária e tromborregulação (Vasconcelos et al., 1993; Verjovski-Almeida et al., 2003), e bilharzina, um inibidor do fator XIIa (ou fator de Hageman) (Tsang & Damian, 1977; Tsang, Hubbard & Damian, 1977). O estudo do transcriptoma de *S. mansoni* ainda identificou transcritos para moléculas tipo equicetina, relacionadas com a hemostasia e a prevenção de trombose (Verjovski-Almeida et al., 2003). A equicetina (*echicetin*) é uma proteína derivada do veneno de cobra, que inibe a ligação do fator de von Willebrand e de alboagreguinas (*alboaggregins*) à glicoproteína Ib plaquetária (Peng et al., 1993). As alboagreguinas (AL-A, AL-B, AL-C) foram isoladas do veneno da cobra *Trimeresurus albolabris* e representa uma nova família de proteínas que se ligam à glicoproteína Ib plaquetária (Peng, Lu & Kirby, 1992).

Figura 5 – Veia mesentérica de camundongo *Swiss Webster* contendo casal de vermes adultos (região distal). A fêmea está bem escurecida pela presença de grande quantidade de pigmento esquistossomótico (hemozoína) (folheto mesentérico corado com Giemsa de Lennert)

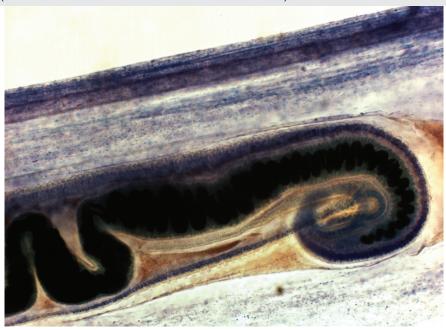



Figura 6 – Verme adulto macho de *S. mansoni*, cortado longitudinalmente, com suas ventosas em contato direto com o endotélio de veia mesentérica, portando uma fêmea no canal ginecóforo. Os lobos testiculares estão indicados pelos pontos (PAS-Azul de Alciano pH 2.5)

Ocorrências hemorrágicas são possíveis devido à redução da atividade dos fatores de coagulação II, VII, IX e X, dependentes de vitamina K, embora mudanças hemostáticas pró-coagulantes contrabalancem e, de certa forma, expliquem a raridade de fenômenos hemorrágicos e/ou trombóticos na infecção esquistossomótica (Carvalho et al., 2005). Outros mecanismos podem ainda estar envolvidos com a inibição da coagulação, talvez pela alteração do endotélio vascular exercida direta ou indiretamente pelos vermes adultos (Lenzi, Sobral & Lenzi, 1988). No camundongo, células endoteliais na vizinhança ou em contato com vermes adultos podem encontrar-se intensamente basofílicas e vacuolizadas, assumindo, inclusive, organização sincicial (endotélio multinucleado) (Silva et al., 2003). Algumas hemácias parecem aderir ao tegumento dos vermes machos, sem se fusionarem com o verme, mas deformando-se ou sofrendo lise (Caulfield & Cianci, 1985) devido a alterações na permeabilidade da membrana plasmática a cátions (ver revisão de Hoffman & Simonsen, 1989). O verme rapidamente induz redução do volume dos eritrócitos e do conteúdo de íons de potássio, sugerindo uma possível relação entre tais acontecimentos (Thatte et al., 1993).

A RESPOSTA CELULAR, *IN VIVO* E *IN VITRO*, AO PARASITO, CONFORME SEUS DIFERENTES ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO E AMADURECIMENTO

Cercária

A rápida transformação de cercárias para esquistossômulos faz com que elas não sejam alvo de reações celulares. Todavia, exposições primárias a material cercariano ocasionaram reações dérmicas, atribuíveis a sua capacidade de ativar o complemento (Gazzinelli, Ramalho-Pinto & Dias da Silva, 1969; Machado et al., 1975) e de atrair, quimiotaticamente, eosinófilos (Colley et al., 1977a). Em animais infectados ou sensibilizados, extratos cercarianos provocaram hipersensibilidade de tipo retardado ou imediato (Katz & Colley, 1976a; Katz & Colley, 1976b; Pellegrino & Memoria, 1960; Moriearty & Lewert, 1974).

In vitro, preparações antigênicas de cercárias (CAP) foram estudadas, em ensaios de inibição da migração de macrófagos (MIF) e de estimulação blastogênica de linfócitos (Chen & Dean, 1977; Colley, Savage & Lewis, 1977b; Katz & Colley, 1976a; Ottesen et al., 1978). Em camundongos, a melhor sensibilização de linfócitos à CAP requereu múltiplas e semanais infecções ou exposições à preparação antigênica em adjuvante completo de Freund (Katz & Colley, 1976b). Células mononucleares de sangue humano periférico, obtidas de pacientes infectados com *S. mansoni*, responderam a extratos cercarianos de um modo dose-dependente (Colley, Savage & Lewis, 1977b; Ottesen et al., 1978), e o grau de resposta não teve nenhuma relação com a intensidade da infecção (Colley, Savage & Lewis, 1977b). Há poucos indícios da ocorrência de regulação da resposta humoral ou celular, *in vivo*, durante infecção ativa (Colley, 1981). Todavia, *in vitro*, a resposta blastogênica de linfócitos a CAP foi inibida por soro de pacientes infectados (Ottesen & Poindexter, 1980), pela presença de células aderentes (Todd, Goodgame & Colley, 1979) e por supressão, não-específica, pela própria preparação antigênica (Colley, Savage & Lewis, 1977b).

Esquistossômulo

Esquistossômulo de pele

Durante o tempo em que as larvas se alojam na pele, em animais primo-infectados costumam ocorrer apenas uma reação edematosa na derme e uma infiltração leucocitária discreta, predominantemente neutrocitária (Colley, Magalhães Filho & Coelho, 1972; Koppisch, 1937; Von Lichtenberg et al., 1976). Muitos neutrófilos, em cobaias e camundongos CBA/Ca, localizados na epiderme, exibiram descontinuidades na membrana plasmática ocasionadas, provavelmente, por produtos citotóxicos derivados do parasito (Incani & McLaren, 1984).

Em animais previamente infectados ou imunizados, ativa ou passivamente, a infecção cercariana, a depender do hospedeiro e do esquema de infecção e imunização, pode determinar, na pele, reações mais precoces, intensas e mais duradouras, compostas principalmente por eosinófilos (Colley, Magalhães Filho & Coelho, 1972; Von Lichtenberg & Ritchie, 1961; Von Lichtenberg et al., 1976), basófilos (Pearce & McLaren, 1986) e células mononucleares (McLaren & Smithers, 1988). *In vitro*, a co-cultura de células esplênicas obtidas de camundongos infectados por *S. mansoni*, por duas a 15 semanas com esquistossômulos, estimulou a produção de material solúvel, de origem linfocitária, com atividade biológica semelhante ao *Eosinophil Stimulation Promoter/Eosinophil Chemotatic Factor of Lymphocytes* (ESP/ECF) (James & Sher, 1980; Lewis, Carter & Colley, 1977).

A partir de 1974, uma verdadeira pletora de sistemas *in vitro* tem demonstrado a capacidade de várias células e do soro, isolados ou em combinações, lesar ou matar esquistossômulos de pele ou mecânicos. A helmintotoxidade, dependente de células e mediada por anticorpo ou complemento, foi observada em macrófagos (Capron, Dessaint & Capron, 1975; Perez & Smithers, 1977), eosinófilos (Butterworth et al., 1975; Ramalho-Pinto, McLaren & Smithers, 1978), eosinófilos e macrófagos (Kassis, Aikawa & Mahmaoud, 1970), neutrófilos (Dean, Wistar & Murrel, 1974) macrófagos ativados por linfocina (Bout et al., 1981), linfócitos T (Ellner et al., 1982) e plaquetas (Joseph et al., 1983).

Usando esquistossômulos como carreadores para o hapteno trinitrofenol (TNP), (Ramalho-Pinto, De Souza & Playfair, 1976; Ramalho-Pinto et al., 1976) demonstraram a capacidade de superfície do parasito

de atuar como um ativador de células T-auxiliadoras, em ratos e camundongos. A atividade T-auxiliadora, específica para esquistossômulo, foi mais acentuada entre sete e dez dias após a infecção primária, declinando, depois, no transcurso da infecção (Ramalho-Pinto, Smithers & Playfair, 1979).

Esquistossômulo pulmonar

Do mesmo modo que na pele, esquistossômulos pulmonares provocam, em geral, pouca ou nenhuma reação tecidual em animais primo-infectados (Magalhães Filho, 1959). Na infecção de coelhos e ratos albinos, observou-se reação pulmonar à passagem dos esquistossômulos, expressa por pequenas hemorragias petequiais, congestão alveolar focal, proliferação histiocitária, infiltração de células redondas e eosinófilos e formação ocasional de células sincicias e células gigantes de tipo corpo estranho ao redor dos parasitos, sem ocasionar lesões pneumônicas (Koppisch, 1937). Segundo esse autor, alguns parasitos invasores, através deste mecanismo, desaparecem absorvidos pelo tecido pulmonar. Em animais reinfectados, Magalhães Filho (1959) observou retenção de esquistossômulos em vasos arteriais pulmonares, com alta mortalidade e infiltrado polimorfo e mononuclear ao redor de parasitos mortos e em distribuição perivascular. Andrade & Reis (1984) também só observaram reações pulmonares bem desenvolvidas em torno de esquistossômulos injetados mortos, as quais foram mais intensas e com maior quantidade de eosinófilos nos animais previamente infectados. A dinâmica do infiltrado ao redor de esquistossômulos pulmonares injetados não só foi mais intensa como bem mais rápida nos animais já infectados, atingindo nestes um pico máximo após 24 horas, enquanto com animais de controle o pico se deu apenas no 6º dia (Olveda, Olds & Mahmaoud, 1981). Ainda não se sabe qual é o grau de importância que a inflamação pulmonar não específica tem na eliminação de esquistossômulos pulmonares em vários modelos experimentais (Smith et al., 1975).

Verme Adulto

Os vermes adultos, principalmente as fêmeas, ingerem uma grande quantidade de hemácias dos vasos venosos onde estão alojados. Mjoki, Smith & Prichard (1988) demonstraram que os vermes adultos têm uma capacidade maior do que os esquistossômulos para detoxificar agentes oxidantes, protegendo-os contra sua ação lesiva. O sangue digerido é rapidamente hemolisado em seus intestinos: nas fêmeas, cerca de 330 mil hemácias por hora, enquanto os machos aproximadamente 30 mil hemácias por hora (Lawrence, 1973). A hemoglobina liberada é essencial para o desenvolvimento, o crescimento e a reprodução dos parasitos. A hemolisina, presente no esôfago, lisa as células vermelhas (Bogitsh, 1989; Kasschau, Robinson & Dresden, 1986), liberando a hemoglobina para o tubo digestivo, onde é catabolizada em dipeptídeos ou aminoácidos livres. Tais peptídeos difundem-se para e/ou são incorporados pelas células gastrodermais do intestino (Bogitsh, 1989; Zussman, Bauman & Petruska, 1970). Da hemoglobina, a porção globina é utilizada, enquanto o produto final da oxidação do grupo prostético heme – amplamente conhecido como pigmento esquistossomótico, anteriormente referido como hematina (Cousin & Dorsey, 1991) e mais recentemente caracterizado como hemozoína (Oliveira et al., 2000) – é regurgitado. A regurgitação da hemozoína pelo parasito se dá em decorrência de movimentos peristálticos, acumulando-se no fígado do hospedeiro (Homewood, Jewsbury & Chance, 1972; Stenger, Warren & Johnson, 1967). O bloqueio da proteólise da hemoglobina do hospedeiro com um amplo espectro de inibidores de proteases

causa profundos efeitos antiesquistossomóticos, com diminuição da patologia (Bogitsh, Kirschner & Rotmans, 1992; Oliveira et al., 2004; Wasilewski et al. 1996).

Antígenos de vermes adultos têm sido identificados, isoladamente ou em imunocomplexos, provenientes de processo de excreção-secreção [*Excretory-Secretory* (ES) *antigens*] ou liberados após a morte do parasito. Embora vários antígenos ES tenham sido observados *in vitro* (Murrel, Vannier & Ahmed, 1974; Rotmans et al., 1881; Tendler & Scapin, 1979), poucos foram identificados na circulação do hospedeiro. O antígeno M circulante (Mag) foi encontrado em urina, soro, leite de pacientes e em urina, soro e rins de animais experimentalmente infectados (Carlier et al., 1976; Carlier, Bout & Capron, 1978; Carlier, Bout & Capron, 1980a; Carlier et al., 1980b; Santoro et al., 1977). O antígeno circulante mais bem caracterizado tem sido estudado por Nash e colaboradores (Nash, 1978; Nash, Nasir & Jeanloz, 1977; Nash, Prescott & Neva, 1974). Esse antígeno tem carga negativa, e trata-se de um proteoglicano composto principalmente por N-acetilgalactosamina, ácido L-glicurônico e pequena quantidade de aminoácidos. Como foi identificado nas células epiteliais que revestem o aparelho digestivo do esquistossomo, foi rotulado de Gasp (*gut-associated proteoglycan*) (Bloch, 1980). A quantidade de antígeno circulante depende da quantidade de material sintetizado e liberado pelo parasito e do grau de sua remoção pelo hospedeiro, nem sempre, portanto, correlacionando-se diretamente com a carga parasitária (Nash, 1982, 1983). Uma grande correlação tem sido encontrada entre os níveis de antígenos circulantes solúveis de *S. mansoni* (CSA) detectados no soro de mães infectadas e no cordão umbilical de seus filhos recém-nascidos, indicando que os CSA são provavelmente transferidos através da placenta (Carlier et al., 1980c). Abdul-Aal & Attalah (1987) localizaram, imunoistoquimicamente, grande quantidade de antígeno de verme adulto seqüestrado em linfonodos mesentéricos e no baço. A abundância de paramiosina na camada mais externa do parasito pode, segundo Matsumoto et al. (1988), explicar a imunidade protetora à infecção esquistossomótica, induzida em camundongos imunizados com essa proteína (Lanar et al., 1986).

Vários mecanismos imunorreguladores desencadeados, direta ou indiretamente, pelos vermes adultos têm sido descritos na literatura. A exposição de células mononucleares de sangue periférico (PBMC) de pacientes com esquistossomose à preparação antigênica de verme adulto (SWAP) tem resultado na produção de um fator mitogênico (MF) que estimula a expressão de receptores de IL-2 em células mononucleares em repouso (Colley et al., 1987; Gazzinelli et al., 1983), ou tem gerado supressão não-específica sobre células autólogas que respondiam à estimulação pela fitoemaglutinina (Colley et al., 1978; Damian, Greene & Hubbard, 1973). Estes últimos demonstraram a expressão de 2-macroglobulina de camundongo pelos esquistossomos, a qual pode apresentar ação imunossupressiva não-específica (Hubbard, 1978). Dessaint, Camus & Capron (1977), Camus et al. (1981) e De Witt (1965) descreveram um fator inibitório derivado do esquistossomo (*Schistosome-derived Inhibitory Factor*, SDIF), de baixo peso molecular, que inibe a proliferação, *in vitro*, induzida por mitógenos e antígenos, e diminui a hipersensibilidade do tipo retardado. Este fator bloqueia seletivamente a proliferação de células T na transição G_1 do ciclo celular (Mazingue et al., 1987) e age também sobre mastócitos (Mazingue et al., 1980).

Ellner et al. (1981) observaram, em pacientes, uma dicotomia na reatividade ao SWAP, expressa por acentuada diminuição da resposta blástica em células mononucleares do sangue periférico de indivíduos com infecção maciça, quando comparada com a resposta obtida em indivíduos com excreção ovular leve

ou moderada. Contudo, o grupo de pacientes hepatoesplênicos respondeu de um modo paradoxal, isto é: em alguns pacientes a resposta foi vigorosa e, em outros, simplesmente não houve resposta ao SWAP.

Ovos

Os ovos são os elementos de *S. mansoni* responsáveis pela maior parte da patologia em hospedeiros vertebrados. O número de ovos postos diariamente por cada fêmea de *S. mansoni* foi calculado por Brumpt (1930) em 157 a 191; por Faust et al. (1934), em pelo menos uma centena; por Moore & Sandground (1956) e Pellegrino & Coelho (1978), em 300 (média); por Watson (1960), em cinco ovos apenas; por Valadares et al. (1981), em 163; e, por Cheever et al. (1994a, 1994b), em 315 (Balb), 340 (C57Bl/6) e 436 (B6); por Lenzi JA (1998), em 160 (*Calomys callosus*) e 130 (*Swiss Webster*). Essa grande variação no cálculo do número de ovos produzidos diariamente por uma fêmea de *S. mansoni* decorre, provavelmente, do emprego de metodologias, animais e isolados de *S. mansoni* diferentes. Contudo, a maioria dos trabalhos aponta para números entre 150 e 300 ovos/fêmea/dia.

Quando um oócito deixa o ovário e é fecundado na porção posterior do oviducto (Erasmus, 1973; Yang, Dong & Jiang, 2003), a primeira divisão meiótica é completada e os cromossomos rapidamente reaparecem. Somente após a segunda divisão meiótica, com a extrusão do corpúsculo polar, os pró-núcleos masculino e feminino se fundem, formando o zigoto. Este, por sua vez, passa através do receptáculo seminal, migra pelo oviducto e, posteriormente, pelo vitelo-oviducto, onde se associa com algumas células vitelinas, chegando então ao oótipo. É nesse órgão que se forma a casca do ovo, enclausurando a massa celular vitelina e o zigoto. Por fim, o ovo é liberado no útero (Neves et al., 2005; Roberts & Janovy, 1999; Spence & Silk, 1971), onde ocorrerá uma pequena parte da embriogênese, sendo posteriormente oviposto na corrente sanguínea, ainda imaturo. Os ovos recém-ovipostos possuem cerca de 112 x 44 μm[9], com o pólo anterior mais delgado e o pólo posterior mais robusto, com um espinho lateral bastante característico. O desenvolvimento embrionário completo tem duração de seis (Pellegrino et al., 1962; Prata, 1957) a sete dias (Michaels & Prata, 1968). Destes, apenas cerca de cinco minutos são intra-uterinos, enquanto todo o período restante é extra-uterino, nos tecidos do hospedeiro vertebrado, principalmente fígado e intestino. Ao final da embriogênese, os ovos chegam a atingir 150 x 70 μm[9] e necessitam sair do território vascular e atravessar a parede do intestino para serem liberados junto com as fezes, dando continuidade ao complexo ciclo biológico deste parasito. Em *C. callosus*, por exemplo, o início da eliminação de ovos nas fezes foi verificado no 35º dia, ao passo que, em camundongo, apenas no 40º dia (Lenzi JA, 1998; Prata, 1957). Nessa fase, os ovos maduros podem permanecer vivos nos tecidos do hospedeiro por um período máximo de 12 dias (Cançado et al., 1965; Prata, 1957). No entanto, 50% dos ovos liberados pelas fêmeas são carregados pela circulação portal e ficam retidos nos tecidos do hospedeiro (Warren, 1978), induzindo a formação de granulomas hepáticos e intestinais, hepatoesplenomegalia e fibrose periportal. O ovo, por sua vez, libera uma grande variedade de imunógenos, que são conhecidos coletivamente como 'antígeno solúvel do ovo' (SEA, do inglês *soluble egg antigen*) e mediam as respostas imunológicas envolvidas com a migração tecidual, agregação plaquetária (Doenhoff et al., 2003; Ngaiza & Doenhoff, 1990), adesão ao endotélio vascular (File, 1995; Lejoly-Boisseau et al., 1999), passagem para a luz intestinal (Lenzi, Lenzi & Sobral, 1987), formação de granulomas (Lenzi et al., 1998) e processos relacionados à angiogênese (Loeffler et al., 2002).

Conclusão

Os eventos da penetração cercariana, seguidos por transformação em esquistossômulo, invasão vascular (intravasão), migração intravascular pela circulação pulmonar e sistêmica (fase pré-hepática), alojamento no fígado e crescimento para vermes adultos machos e fêmeas (fase hepática/pós-hepática) seguem listados.

- Fatores que Interferem na Penetração Cercariana
  - temperatura: a penetração pode ocorrer entre 7ºC e 45ºC, com uma média de penetração boa entre 16ºC e 35ºC, e ótima entre 27°C e 28°C (ideal: água desclorada a 27°C);
  - idade das cercárias: ótima entre uma e três horas;
  - tempo de exposição: 60 minutos (na maioria das vezes, porém, 30 minutos são suficientes).

- Duração da Penetração Cercariana na Pele de Vários Hospedeiros
  - homens e cães jovens: 15 minutos (podendo variar na pele humana entre 3,1 e 17 minutos); cinco minutos (em cultura de células da pele humana);
  - camundongos, ratos, macacos, hamsters: 0,7 a 19 minutos (varia com a localização anatômica da pele).

- Invasão de Veias ou Vênulas (em Camundongos)
  - assim que os esquistossômulos atingem a derme, são necessárias mais dez horas para localizarem uma vênula dérmica e mais de 8,5 horas para penetrarem a parede vascular e saírem da pele:
    - pele abdominal: mais de dois dias;
    - pele de orelha: cerca de três dias;
    - pele da cauda: cerca de cinco dias.

- Permanência dos Parasitos na Pele (em Camundongos)
  - pele abdominal e pele de orelha: até quatro ou cinco dias;
  - pele da cauda: até 11 dias.

- Início de Saída da Pele
  - camundongo: 88 horas (tempo médio, observado que nenhum parasito abandona a pele antes de 46 horas);
  - hamster: 65 horas (tempo médio);
  - rato: 70 horas (tempo médio).

- Transformação para Esquistossômulo de Pele
  - de uma a três horas: perda da maioria do glicocálix, conversão de membrana trilaminada para heptalaminada e mudança de metabolismo aeróbico para anaeróbico.

- Migração pelos Pulmões
  - aumento nos capilares pulmonares: entre o 2º e o 7º dias;

- pico de permanência: 5º dia (hamster e rato); 6º dia (camundongo);
- data-limite de encontro de esquistossômulos nos pulmões: 18º dia (rato); 20º dia (hamster); 12º dia (babuíno); 22º dia (camundongo, observado que, eventualmente, esquistossômulos pulmonares podem ser recuperados, em camundongos, no 67º e no 46º dias após infecção com 65 e 440 cercárias, respectivamente).

▸ Ingresso no Sistema Porta-hepático

- chegada aos vasos venosos intra-hepáticos: podem ser encontrados vermes jovens ao lado de espécimes adultos, durante vários dias, entre o 4º e o 23º dias. O acúmulo de parasitos no fígado segue um padrão sigmóide no camundongo, atingindo um platô ao redor do 20º dia de infecção, momento em que 37% dos parasitos que atingem a maturidade ali aportam.

▸ Eventos Parasitológicos Iniciais da Fase Hepática/Pós-hepática

- acasalamento de vermes juvenis: 22º -23º dias (*Calomys callosus*);
- acasalamento de vermes adultos: 26º dia (*C. callosus*); 25º dia (*Swiss Webster*);
- ovos imaturos: fígado (31º dia em *C. callosus* e 30º dia em *S. Webster*); intestino (31º dia em ambos os referidos animais); pâncreas (32º dia em *C. callosus* e 33º dia em *S. Webster*);
- ovos maduros com miracídio vivo: fígado (34º dia em *C. callosus* e 35º dia em *S. Webster*); intestino (35º dia em *C. callosus* e 36º dia em *S. Webster*); pâncreas (37º dia em *C. callosus* e 36º dia em *S. Webster*);
- aparecimento de ovos nas fezes: 35º dia (*C. callosus*) e 40º dia (*S. Webster*);
- migração contracorrente de vermes adultos para vasos mesentéricos: a partir da terceira semana. Vermes acasalados em vasos mesentéricos de camundongos foram observados a partir do 29º dia;
- número de ovos liberados diariamente por cada fêmea: de cinco a 436. A maioria dos trabalhos aponta para números entre 150 e 300 ovos;
- proporção entre machos e fêmeas: depende do modelo animal e do tempo de infecção. Pode variar de 1:1 a 2,3:1;
- percentual de recuperação de vermes adultos: depende do modelo animal, do tempo de infecção, da carga do inóculo e do método de recuperação. Pode variar de 4,3% a 73,8% (média de 22,6%).

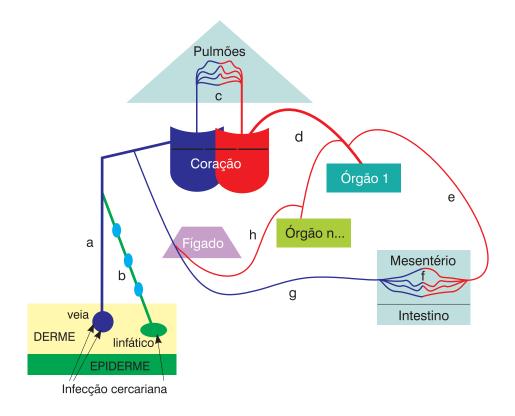
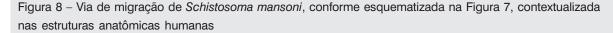
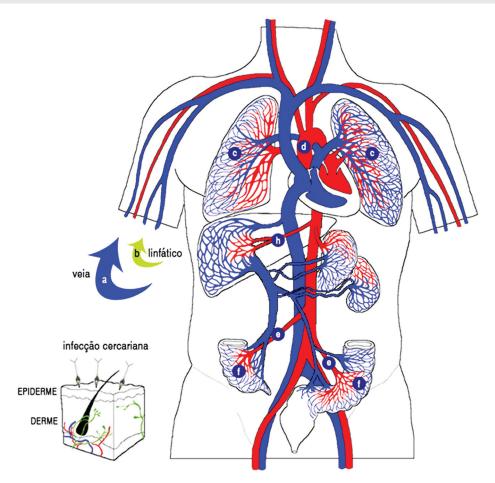
PERSPECTIVAS

É demonstrada, esquematicamente, nas Figuras 7 e 8, a via de migração de *S. mansoni* a partir da pele para atingir os vasos intra-hepáticos e posterior migração contracorrente para os vasos mesentéricos.

A longa jornada dos esquistossomos, perpassando o ambiente aquático em dois momentos (como miracídio e como cercária), bem como dois hospedeiros (invertebrado e vertebrado) bastante distintos, além de sobrepujar inúmeras barreiras físicas, químicas, fisiológicas e imunológicas, qualifica-os como organismos completamente adaptados ao parasitismo ou, de acordo com Lenzi et al. (1997) e Lenzi & Vannier-Santos (2005), à coabitação. Como outros helmintos, os esquistossomos induzem a infecções

crônicas nas quais tanto o parasito (ou coabitante) quanto o hospedeiro sobrevivem por décadas, maximizando a oportunidade para a transmissão e reprodução do parasito. Ademais, fatores do hospedeiro podem estimular caminhos de desenvolvimento alternativos, que facilitam a sobrevivência do parasito em condições adversas (Bergquist, 1995; Dune, Hagan & Abath, 1995) ou podem atuar como promotores necessários para seu desenvolvimento e manutenção (Davies et al., 2001), reforçando a visão ecológica do fenômeno de coabitação (parasitismo) (Lenzi et al., 1997; Lenzi & Vannier-Santos, 2005).

Figura 7 – Representação esquemática das vias de migração de *Schistosoma mansoni*, a partir da pele, até os vasos intra-hepáticos. Os esquistossômulos dérmicos invadem vasos venosos e/ou linfáticos, passando a migrar em direção ao coração pela circulação venosa de retorno (a) e/ou linfática, transitando por linfonodos (b). Do ventrículo direito, são bombeados para a pequena circulação ou circulação pulmonar (c), retornando ao coração pelas veias pulmonares. Do ventrículo esquerdo, saem pela aorta (d), circulando sistemicamente por vários órgãos para, finalmente, ao transitarem pelas artérias mesentéricas (e), passarem da circulação arterial para a venosa nos capilares mesentéricos (f), atingindo o fígado pela veia porta (g). Podem também chegar ao fígado, utilizando a artéria hepática (h). Do fígado, os vermes adultos migram contra a corrente vascular pela veia porta (g), alojando-se em vasos mesentéricos, próximo ao intestino

Figura 8 – Via de migração de *Schistosoma mansoni*, conforme esquematizada na Figura 7, contextualizada nas estruturas anatômicas humanas

Como em diversas infecções parasitárias, a pesquisa em esquistossomose ainda não propiciou o desenvolvimento de uma vacina efetiva, embora a quimioterapia com praziquantel seja geralmente eficaz. Tal droga rompe a homeostasia de Ca^{2+} nos vermes adultos, possivelmente por causa da ausência particular de sítios de fosforilação nos domínios de interação *beta* (BID, do inglês *Beta Interaction Domain*) das subunidades β dos canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem dos esquistossomos (Kohn et al., 2003), causando contração muscular, paralisia espástica e dano tegumentar, bem como alterando a imunogenicidade, pois interfere na habilidade dos vermes adultos em escapar, no sistema imunológico (Kohn et al., 2003; Ribeiros-dos-Santos, Verjovski-Almeida & Leite, 2006). Embora, na maioria dos casos, a eficiência e segurança do praziquantel tenham sido confirmadas, o aparecimento de isolados resistentes de esquistossomos, ou a perda de efetividade da droga em tais situações, bem como sua possível ação mutagênica, podem ser preocupantes para tratamentos futuros (Ali, 2006; Silva et al., 2003).

Possíveis novos alvos de drogas já conhecidas devem, portanto, ser estudados, assim como novas drogas, menos tóxicas e mais eficazes, devem ser desenvolvidas. Vários fenômenos biológicos básicos ainda não foram completamente desvendados, tais como:

- a entrada dos esquistossômulos na vascularização (intravasão);
- a migração pelos pulmões e a localização preferencial em vasos portais e suas ramificações;
- o rápido crescimento dos esquistossômulos em ramos intra-hepáticos da veia porta;
- o desenvolvimento dos ovos e de atributos específicos de cada sexo, como o canal ginecóforo nos machos.

A compreensão desses eventos pode conduzir a descobertas importantes, tanto para o desenvolvimento de novas estratégias quimioterapêuticas, quanto imunoprofiláticas. Ademais, o advento de recentes abordagens moleculares, como a genômica funcional e a proteômica, bem como o aperfeiçoamento ou a utilização de novas ferramentas bioquímicas e moleculares como o silenciamento de RNAs (RNA de interferência; RNAi), aliados à renovação da concepção corrente do fenômeno parasitismo para uma visão ecológica, em nível molecular e celular, podem proporcionar valiosas reflexões sobre a biologia desse parasito e o desenvolvimento de imunoprofilaxia(s) eficiente(s). Cada fase do ciclo (miracídio, esporocistos, cercárias, esquistossômulos, vermes imaturos, vermes adultos) convive com uma situação bioecológica peculiar, oferecendo excelente material para estudo de fatores epigenéticos variados sobre um mesmo genoma.

Após toda essa longa jornada pela qual os parasitos passam no interior do organismo do hospedeiro vertebrado, se a infecção for bem-sucedida os parasitos podem residir no hospedeiro por até 30 anos (McKerrow & Salter, 2002). Os mecanismos de penetração e de maturação dos parasitos e a definição clara dos sítios e mecanismos de atrito no hospedeiro ainda não estão completamente desvendados. O ponto crucial, ainda para ser elucidado, é a influência do ambiente hepático na maturação dos esquistossômulos. É importante destacar que, modernamente, o fígado é visto como um órgão imunotolerante, com um rico componente neuroendócrino (Bowen et al., 2004; Macky, 2002; Roskams et al., 2004).

Atualmente, novas ferramentas moleculares, como o uso de RNA de interferência (RNAi), podem ser aplicadas no estudo dos grandes eventos biológicos apresentados neste capítulo: entrada dos esquistossômulos na vascularização (intravasão), migração através dos pulmões, início do crescimento rápido ao nível do fígado, localização preferencial dos vasos portais e desenvolvimentos de atributos específicos de cada sexo, como o canal ginecóforo nos machos (Correnti, Brindley & Pearce, 2005).

REFERÊNCIAS

ABBOUD, J. A.; HANNA, L. S. & RAGAB, H. A. A. Experimental ocular schistosomiasis. *The British Journal of Opthalmology*, 55: 106-115, 1971.

ABDUL-AAL, G. M. & ATTALLAH, A. M. Immunopathology of experimental *Schistosoma mansoni*: immunohistochemical localization of parasite antigens in the host tissue. *Internacional Archives of Allergy and Applied Immunology*, 82: 89-94, 1987.

AHMED, F. S. et al. Developmental differences determine larval susceptibility to nitric oxide-mediated killing in a murine model of vaccination against *Schistosoma mansoni*. *Infection and Immunity*, 65: 219-226, 1997.

ALBERTS, B. et al. *Molecular Biology of the Cell*. 4. ed. New York: Garland Science, 2002.

ALI, B. H. A short review of some pharmacological, therapeutic and toxicological properties of praziquantel in man and animals. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19: 170-175, 2006.

ANDRADE, Z. A. & REIS, M. G. Estudo sobre o papel dos eosinófilos na destruição dos esquistossômulos do *Schistosoma mansoni in vivo*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 79: 371-373, 1984.

ANTUNES, C. M. F. Nectomys squamipes *Brant, 1827, na Epidemiologia da Esquistossomose Mansônica*, 1971. Belo Horizonte, Dissertação de Mestrado: Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.

ARMSTRONG, J. C. Mating behavior and development of schistosomes in the mouse. *The Journal of Parasitology*, 51: 605-616, 1965.

ASHTON, P. D. et al. The schistosome egg: development and secretions. *Parasitology*, 122(3): 329-338, 2001.

AUSTIN, F. G.; STIREWALT, M. A. & DANZIGER, R. E. *Schistosoma mansoni*: stimulatory effect of rat skin lipid fractions on cercarial penetration behavior. *Experimental Parasitology*, 31: 217-224, 1972.

AWADALLA, H. N.; EL SHEIKH, H. E. & FARAG, H. F. Local development of *Schistosoma mansoni* worms in the lungs of mice. *The Journal of the Egyptian Medical Association*, 61: 457-462, 1978.

BARBOSA, M. A. et al. Quantitative aspects of the migration and evolutive asynchronism of *Schistosoma mansoni* in mice. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 20: 121-132, 1978.

BARLETT, A. et al. The infection of human skin by schistosome cercariae: studies using Franz cells. *Parasitology*, 121: 49-54, 2000.

BASCH, P. F. Why do schistosomes have separate sexes? *Parasitology Today*, 6: 160-163, 1990.

BASCH, P. F. *Schistosomes: development, reproduction, and host relations*. New York: Oxford University Press, 1991.

BASCH, P. F. & SAMUELSON, J. Cell Biology of Schistosomes. I. Ultrastructure and transformations. In: WYLER, D. J. *Modern Parasite Biology: cellular, immunological, and molecular aspects*. New York: WH Freeman and Company, 1990.

BENTLEY, A. G.; CARLISLE, S. & PHILLIPS, S. M. Ultrastructural analysis of the cellular response to *Schistosoma mansoni*. II. Inflammatory responses in rodent skin. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 30: 815-824, 1981.

BERGQUIST, N. R. Controlling schistosomiasis by vaccination: a realistic option? *Parasitology Today*, 11: 191-194, 1995.

BEZERRA, M. et al. The life cycle of *Schistosoma mansoni* under germfree conditions. *The Journal of Parasitology*, 71: 519-520, 1985.

BLAHITKA, J. & RAKUSAN, K. Blood flow in rats during hemorrhagic shock: differences between surviving and dying animals. *Circulatory Shock*, 4: 79-93, 1977.

BLANTON, R. E. & LICATE, L. S. Developmental regulation of protein synthesis in schistosomes. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 51: 201-208, 1992.

BLOCH, E. H. *In vivo* microscopy of schistosomiasis. II. Migration of *Schistosoma mansoni* in the lungs, liver, and intestine. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 29: 62-70, 1980.

BOGITSH, B. J. Observations on digestion in schistosomes or 'blood and guts'. *Transactions of the American Microscopical Society*, 108: 1-5, 1989.

BOGITSH, B. J.; KIRSCHNER, K. F. & ROTMANS, J. P. *Schistosoma japonicum*: immunoinhibitory studies on hemoglobin using heterologous antiserum to bovine cathepsin D. *The Journal of Parasitology*, 78: 454-459, 1992.

BORDA, C. E. *Infecção Natural e Experimental de Alguns Roedores pelo* Schistosoma mansoni *Sambon, 1907*, 1972. Belo Horizonte, Dissertação de Mestrado: Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.

BOUT, D. T. et al. *In vitro* killing of *Schistosoma mansoni* schistosomula by lymphokine-activated mouse macrophages. *Journal of Immunology*, 127: 1-5, 1981.

BOWEN, D. G. et al. The site of primary T cell activation is a determinant of the balance between intrahepatic tolerance and immunity. *The Journal of Clinical Investigation*, 114: 701-712, 2004.

BRENER, Z. Notes on infection of rats with *Schistosoma mansoni*. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 8: 565-575, 1956.

BRENER, Z. Observações sobre a infecção do camundongo pelo *Schistosoma mansoni. Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 8: 565-575, 1962.

BRINK, L. H.; MCLAREN, D. J. & SMITHERS, S. R. *Schistosoma mansoni*: a comparative study of artificially transformed schistosomula and schistosomula recovered after cercarial penetration of isolated skin. *Parasitology*, 74: 73-86, 1977.

BROWN, S. P. & GRENFELL, B. T. An unlikely partnership: parasites, concomitant immunity and host defense. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B*, 268: 2.543-2.549, 2001.

BRUCE, J. I. et al. Migration of *Schistosoma mansoni* through mouse tissue. Ultrastructure of host tissue and integument of migrating larva following cercarial penetration. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 19: 959-981, 1970.

BRUCE, J. I. et al. *Schistosoma mansoni*: pulmonary phase of schistosomule migration studied by electron microscopy. *Experimental Parasitology*, 35: 150-160, 1974.

BRUMPT, E. Cycle évolutif complet de *Schistosoma bovis* infection naturalle en corse et infection expérimentale de *Bullinus contortus*. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 8: 17-50, 1930.

BRUMPT, E. Action de hôtes définitifs sur l'évolution et sur la sélétion de sexes de certain helminthes hérbegés par eux. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 14: 542-551, 1936.

BUTTERWORTH, A. E. et al. Eosinophils as mediators of antibody-dependent damage to schistosomula. *Nature*, 256: 727-729, 1975.

CAMPBELL, W. C. & CUCKLER, A. C. The prophylactic effect of topically applied cedarwood oil on infection with *Schistosoma mansoni* in mice. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 10: 712-715, 1961.

CAMUS, D. et al. Immunoregulation by *Schistosoma mansoni. Immunopharmacology*, 3: 183-204, 1981.

CANÇADO, J. R. et al. Evaluation of the treatment of human *Schistosoma mansoni* infection by the quantitative oogram technique. *Bulletin of the World Health Organization*, 33: 557-66, 1965.

CAPRON, A. R. Immunity to schitosomes. *Current Opinion in Immunology*, 4: 419-424, 1992.

CAPRON, A. R.; DESSAINT, J. P. & CAPRON, M. Specific IgE antibodies in immune adherence of normal macrophages to *Schistosoma mansoni* schistossomules. *Nature*, 253: 474-475, 1975.

CARLIER, Y.; BOUT, D. & CAPRON, A. Further studies on the circulating M antigen in human and experimental *Schistosoma mansoni* infections. *Annales d'Immunologie de Institut Pasteur*, 126c: 811-818, 1978.

CARLIER, Y.; BOUT, D. & CAPRON, A. R. Detection of *Schistosoma mansoni* M antigen in circulating immune complexes and in kidneys of infected hamsters. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 74: 534-538, 1980.

CARLIER, Y. et al. Characterization d'antigenes circulants dans la bilharziose humaine: mise en evidence dans l'urine et le lait. *Annales l'Institut Pasteur*, 127c: 128, 1976.

CARLIER, Y. et al. Purification, immunochemical and biologic characterization of the *Schistosoma* circulating M Antigen. *Journal of Immunology*, 124: 2442-2450, 1980a.

CARLIER, Y. et al. Evaluation of circulating antigens by a sandwich radioimmunoassay, and of antibodies and immune complexes, in *Schistosoma mansoni*-infected African parturients and their newborn children. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 29(1): 74-81, 1980b.

CARVALHO, M. G. et al. Murine *schistosomiasis mansoni*: process of blood coagulation at pre-patent, acute and chronic phases, and consequence of chemotherapeutic cure on the reversion of changes. *Blood Coagulation & Fibrinolysis: na international journal in haemostasis and thrombosis*, 16: 469-475, 2005.

CARVALHO, W. S. et al. Purification and partial characterization of kininogenase activity from *Schistosoma mansoni* adult worms. *Parasitology*, 117(4): 311-319, 1998.

CAULFIELD, J. P. & CIANCI, C. M. Human erythrocytes adhering to schistosomula of *Schistosoma mansoni* lyse and fail to transfer membrane components to the parasite. *The Journal of Cell Biology*, 101: 158-166, 1985.

CHEEVER, A. W. et al. Kinetics of egg production and egg excretion by *Schistosoma mansoni* and *S. japonicum* in mice infected with a single pair of worms. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 50: 281-295, 1994a.

CHEEVER, A. W. et al. Natural history of *Schistosoma mansoni* infection in mice: egg production, egg passage in the feces, and contribution of host and parasite death to changes in worm numbers. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 50: 269-280, 1994b.

CHEN, L. L.; REKOSH, D. M. & LOVERDE, P. T. *Schistosoma mansoni* p48 eggshell protein gene: characterization, developmentally regulated expression and comparison to the p14 eggshell protein gene. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 52: 39-52, 1992.

CHEN, P. & DEAN, D. A. Immune response of guinea pigs to *Schistosoma mansoni*. II. *In vitro* blastogenesis and macrophage migration inhibition factor production in response to cercarial, adult worm, and egg antigens. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 26: 963-969, 1977.

CLEGG, J. A. *In vitro* cultivation of *Schistosoma mansoni*. *Experimental Parasitology*, 16: 133-147, 1965.

CLEGG, J. A. & SMITHERS, S. R. Death of schistosome cercariae during penetration of the skin. II. Penetration of mammalian skin by *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 58: 111-128, 1968.

CLEGG, J. A. & SMITHERS, S. R. The effects of immune rhesus monkey serum on schistosomula of *Schistosoma mansoni* during cultivation *in vitro. International Journal for Parasitology*, 2: 79-98, 1972.

CLEGG, J. A.; SMITHERS, S. R. & TERRY, R. J. Acquisition of human antigens by *Schistosoma mansoni* during cultivation *in vitro*. *Nature*, 232: 653-654, 1971.

CLOUGH, E. R. Morphology and reproductive organs and oogenesis in bisexual and unisexual transplants of mature *Schistosoma mansoni* females. *The Journal of Parasitology*, 67: 535-539, 1981.

COELHO, M. V. *O Parasito:* Schistosoma mansoni. In: CUNHA, A. S. *Esquistossomose mansônica*. São Paulo: Sarvier, 1970.

COELHO, P. M. Z. et al. Migration of *Schistosoma mansoni* collected from hamster and innoculated intraperitoneally in mice. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 70: 161, 1976a.

COELHO, P. M. Z. et al. The crowding effect in *Schistosoma mansoni* infection of hamsters: influence on worm size. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 18: 440-442, 1976b.

COHEN, R. A. Role of nitric oxide in vasomotor regulation. In: LOSCALZO, J & VITA, J. A. *Contemporary Cardiology*. New Jersey: Humana Press, 2000. v. 4.

COLES, G. C. The carbohydrate metabolism of larval *Schistosoma mansoni*. *International Journal for Parasitology*, 2: 341-352, 1972.

COLLEY, D. G. Immune responses to a soluble schistosomal egg antigen preparation during chronic primary infection with *Schistosoma mansoni*. *Journal of Immunology*, 115: 150-156, 1981.

COLLEY, D. G. & WIKEL, S. K. *Schistosoma mansoni*: Simplified method for the production of schistossomules. *Experimental Parasitology*, 35: 44-51, 1974.

COLLEY, D. G.; LEWIS, F. A. & GOODGAME, R. W. Immune responses during human *schistosomiasis mansoni*. IV. Induction of suppressor cell activity by schistosome antigen preparations and Concanavalin A. *Journal of Immunology*, 120: 1225-1232, 1978.

COLLEY, D. G.; MAGALHÃES FILHO, A. & COELHO, R. B. Immunopathology of dermal reactions induced by *Schistosoma mansoni* cercariae and cercarial extract. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 21: 558-568, 1972.

COLLEY, D. G.; SAVAGE, A. M. & LEWIS, F. A. Host responses induced and elicited by cercariae, schistosomula, and cercarial antigenic preparatives. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 26: 88-95, 1977b.

COLLEY, D. G. et al. Immune response during schistosomiasis. I. *In vitro* lymphocyte blastogenic responses to heterogeneous antigenic preparations from schistosome eggs, worms, and cercariae. *International Archives of Allergy and Applied Immunology*, 53: 420-433, 1977a.

COLLEY, D. G. et al. Immune response during human *schistosomiasis mansoni*. VI. *In vitro* non-specific suppression of phytohemagglutinin responsiveness induced by exposure to certain schistosomal preparations. *Journal of Immunology*, 122: 1447-1453, 1979.

COLLEY, D. G. et al. Immunoregulation in human schistosomiasis by idiotypic interactions and lymphokine mediated mechanisms. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82, supl. IV: 105-109, 1987.

CORRENTI, J. M.; BRINDLEY, P. J. & PEARCE, E. J. Long-term suppression of cathepsin B levels by RNA interference retards schistosome growth. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 143: 209-215, 2005.

COSENTINO, F. & LÜSCHER, T. F. Nitric oxide and endothelial regulation of vascular tone. In: MAINES, M. D. *Methods in Neuroscience*. San Diego: Academic Press, 1996. v. 31.

COULSON, P. S. The radiation–attenuatted vaccine against schistosomes in animal models: paradigm for a human vaccine? *Advances in Parasitology*, 39: 271-336, 1997.

COULSON, P. S. & WILSON, R. A. Examination of the mechanisms of pulmonary-phase resistance to *Schistosoma mansoni* in vaccinated mice. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 38: 529-539, 1988.

COUSIN, C. E. & DORSEY, C. Nervous system of *Schistosoma mansoni* cercaria: organization and fine structure. *Parasitology Research*, 77: 132-141, 1991.

COUSIN, C. E.; STIREWALT, M. A. & DORSEY, C. H. *Schistosoma mansoni*: ultrastructure of early transformation of skin- and shear-pressure-derived schistosomules. *Experimental Parasitology*, 51: 341-365, 1981.

COUSIN, C. E.; STIREWALT, M. A. & DORSEY, C. *Schistosoma mansoni*: transformation of cercariae to schistosomules in ELAC, saline and phosphate-buffered saline. *The Journal of Parasitology*, 72: 609-611, 1986.

COUSIN, C. et al. Ultrastructure of the ventral sucker of *Schistosoma mansoni* cercaria. *Journal of Morphology*, 223: 215-223, 1995.

CRABTREE, J. E. & WILSON, R. A. *Schistosoma mansoni*: a scanning electron microscope study of the developing schistosomulum. Parasitology, 81: 553-564, 1980.

CRABTREE, J. E. & WILSON, R. A. *Schistosoma mansoni*: cellular reactions to challenge infections in the cheek pouch skin of chronically infected Chinese hamsters. *Parasitology*, 89(1): 59-69, 1984.

CRABTREE, J. E. & WILSON, R. A. *Schistosoma mansoni*: an ultrastructural examination of skin migration in the hamster cheek pouch. *Parasitology*, 91: 111-120, 1985.

CRABTREE, J. E. & WILSON, R. A. *Schistosoma mansoni*: an ultrastructural examination of pulmonary migration. *Parasitology*, 92: 343-354, 1986.

CUISON, A. et al. Schistosome eggs in the portal vein can induce tolerance. *International Journal for Parasitology*, 25: 993-998, 1995.

CURWEN, R. S. & WILSON, R. A. Invasion of skin by schistosome cercariae: some neglected facts. *Trends in Parasitology*, 19: 63-66, 2003.

DAMIAN, R. T.; GREENE, N. D. & HUBBARD, W. J. Occurrence of mouse alpha 2-macroglobulin antigenic determinants on *Schistosoma mansoni* adults, with evidence on their nature. *The Journal of Parasitology*, 59: 64-73, 1973.

DAVIES, S. J. et al. Modulation of blood fluke development in the liver by hepatic $CD4^+$ lymphocytes. *Science*, 294: 1358-1361, 2001.

DE WITT, W. B. Effect of temperature on penetration of mice by cercariae of *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 14: 579-580, 1965.

DEAN, D. A.; WISTAR, R. & MURREL, K. D. Combined *in vitro* effects of rat antibody and neutrophilic leukocytes on schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 23: 420-428, 1974.

DEAN, D. A. et al. Comparison of *Schistosoma mansoni* migration patterns in normal and irradiated cercaria-immunized mice by means of autoradiographic analysis. Evidence that worm elimination occurs after the skin phase in immunized mice. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 33: 89-96, 1984.

DEAN, D. A. et al. Sites and mechanisms of schistosome elimination. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82, supl. IV: 31-37, 1987.

DESSAINT, J. P.; CAMUS, D. & CAPRON, A. Depression de la proliferation lymphocitaire par un facteur liberé par *Schistosoma mansoni*. *Annales d'Immunologie de Institut Pasteur*, 128C: 57, 1977.

DOENHOFF, M. J. et al. Identification of a fibrinolytic enzyme in *Schistosoma mansoni* eggs and modulated blood fibrinogen metabolism in *S. mansoni*-infected mice. *Parasitology*, 126(3): 231-234, 2003.

DORSEY, C. H. et al. Ultrastructure of the *Schistosoma mansoni* cercaria. *Micron*, 33: 279-323, 2002.

DOWNING, D. T.; STEWART, M. E. & STRAUSS, J. S. Lipids of the epidermis and the sebaceous glands. In: FREEDBERG, I. M. et al. *Dermatology in General Medicine*. 5. ed. New York: McBraw-Hill, 1999.

DRESDEN, M. H. & ASCH, H. L. Proteolytic enzymes in extracts of *Schistosoma mansoni* cercariae. *Biochim Biophys Acta*, 289: 378-384, 1972.

DRESDEN, M. H. & EDLIN, E. M. *Schistosoma mansoni*: effect of some cations on the proteolytic enzyme of cercariae. *Experimental Parasitology*, 35: 299-303, 1974.

DUMONT, A. E. Hepatic suppression of sensitization to antigen transported in the portal vein. *Transplantation*, 26(1): 62, 1978.

DUNCAN, A. M. et al. Kinins in humans. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 278: R897-R904, 2000.

DUNN, M. A. et al. Conversion of arginine to proline in murine schistosomiasis. *Gastroenterology*, 75: 1010-1015, 1978.

DUNNE, D. W.; HAGAN, P. & ABATH, F. G. D. Prospects for immunological control of schistosomiasis. *The Lancet*, 345: 1488-1491, 1995.

ELIAS, P. M. & FEINGOLD, K. R. Skin as an organ of protection. In: FREEDBERG, I. M. et al. *Dermatology in General Medicine*. 5. ed. New York: McBraw-Hill, 1999.

ELLNER, J. J. et al. Dichotomies in the reactivity to worm antigen in human *schistosomiasis mansoni*. *Journal of Immunology*, 126: 309-312, 1981.

ELLNER, J. J. et al. Destruction of the multicellular parasite *Schistosoma mansoni* by T lymphocytes. *The Journal of Clinical Investigation*, 70: 369-378, 1982.

ERASMUS, D. A. A comparative study of the reproductive system of mature, immature and 'unisexual' female *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 67:165-183, 1973.

FALLON, P. G. et al. Elevated type 1, diminished type 2 cytokines and impaired antibody responses are associated with hepatotoxicity and mortalities during schistosome infection of CD4-depleted mice. *European Journal of Immunology*, 30: 470-480, 2000.

FAUST, E. C. An enquiry into the ectopic lesions in schistosomiasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 28: 175-199, 1948.

FAUST, E. C. & MELENEY, H. E. Studies on schistosomiasis japonica. *The American Journal of Hygiene*. Monographic Series, 3: 1-339, 1924.

FAUST, E. C.; JONES, C. A. & HOFFMAN, W. A. Estudios sobre la esquistosomiasis mansoni em Puerto Rico. III. Estudio biológico.2. La etapa mamífera del ciclo vital. *The Puerto Rico Public Health and Tropical Medicine*, 10: 197-254, 1934.

FILE, S. Interaction of schistosome eggs with vascular endothelium. *The Journal of Parasitology*, 81: 234-238, 1995.

FUSCO, A. C.; SALAFSKY, B. & DELBROOK, K. *Schistosoma mansoni*: production of cercarial eiconasoids as correlates of penetration and transformation. *The Journal of Parasitology*, 72: 397-404, 1986.

FUSCO, A. C. et al. *Schistosoma mansoni*: correlations between mouse strain, skin eicosanoid production, and cercarial skin penetration. *The Journal of Parasitology*, 74: 253-261, 1988.

FUSCO, A. C. et al. *Schistosoma mansoni*: the role of calcium in the stimulation of cercarial proteinase release. *The Journal of Parasitology*, 77: 649-757, 1991.

GAZZINELLI, G. & PELLEGRINO, J. Elastolytic activity of *Schistosoma mansoni* cercarial extract. *The Journal of Parasitology*, 50: 591-592, 1964.

GAZZINELLI, G.; RAMALHO-PINTO, F. J. & DIAS DA SILVA, W. *Schistosoma mansoni* generation of anaphylatoxin by cercarial extracts. *Experimental Parasitology*, 26: 86-91, 1969.

GAZZINELLI, G. et al. Immune responses during human *Schistosomiasis mansoni*. X. Production and standardization of an antigen-induced mitogenic activity by peripheral blood mononuclear cells from treated, but not active case of schistosomiasis. *Journal of Immunology*, 130: 2.891-2.895, 1983.

GEBARA, G. et al. Distribution of Langerhans cells in Swiss Webster mouse skin. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 19: 131-133, 1986.

GEORGI, J. R.; DEAN, D. A. & MANGOLD, B. L. *Schistosoma mansoni*: temporal distribution of radioselenium-labelled schistosomula in lungs of mice during the first two weeks of infection. *Parasitology*, 86: 31-36, 1983.

GEORGI, J. R.; WADE, S. E. & DEAN, D. A. Attrition and temporal distribution of *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* schistosomula in laboratory mice. *Parasitology*, 93: 55-70, 1986.

GEORGI, J. R.; WADE, S. E. & DEAN, D. A. *Schistosoma mansoni:* mechanisms of attrition and routes of migration from lungs to hepatic portal system in the laboratory mouse. *The Journal of Parasitology*, 73: 706-711, 1987.

GOBERT, G. N. The role of microscopy in the investigation of paramyosin as a vaccine candidate against *Schistosoma japonicum*. *Parasitology Today*, 14: 115-118, 1998.

GOLDRING, O. L. et al. Acquisition of human blood group antigens by *Schistosoma mansoni*. *Clinical and Experimental Immunology*, 26: 181-187, 1976.

GORDON, R. M. & GRIFFITHS, R. B. Observations on the means by which the cercariae of *Schistosoma mansoni* penetrate mammalian skin, together with an account of certain morphological changes observed in the newly penetrated larvae. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 45: 227-243, 1951.

GRABE, K. & HAAS, W. Navigation within host tissues: *Schistosoma mansoni* and *Trichobilharzia ocellata* schistosomula respond to chemical gradient. *International Journal for Parasitology*, 34: 927-934, 2004.

GRANZER, M. & HAAS, W. The chemical stimuli of human skin surface for the attachment response of *Schistosoma mansoni* cercariae. *International Journal for Parasitology*, 16: 575-579, 1986.

GREVELDING, C. G.; SOMMER, G. & KUNZ, W. Female-specific gene expression in *Schistosoma mansoni* is regulated by pairing. *Parasitology*, 115: 635-640, 1997.

GRIFFITHS, R. B. Further observations on the penetration of mammalian skin by the cercariae of *Schistosoma mansoni*, with special reference to the effects of mass invasion. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 47: 86-94, 1953.

GRIMALDO, E. P. & KERSHAW, W. E. Results obtained by intensive exposure of white mice to *Schistosoma mansoni* infection. I. Recovery and distribution of adults *S. mansoni* from white mice seven weeks after percutaneous infection, the relation between the size of individual worms and the load of infection, and the longevity of heavily infected mice. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 55: 107-111, 1961.

GUI, M. et al. *Schistosoma japonicum* and *S. mansoni* comparison of larval migration patterns in mice. *Journal of Helminthology*, 69: 19-25, 1995.

HAAKE, A. R. & HOLBROOK, K. The structure and Development of Skin. In: FREEDBERG, I. M. et al. *Dermatology in General Medicine*. 5. ed. New York: McBraw-Hill, 1999.

HAAS, W. The attachment response of the cercaria of *Schistosoma mansoni*. Influence of natural substrates and temperature. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 49: 63-72, 1976.

HAAS, W. *Schistosoma mansoni*: cercaricidal effect of 2-tetradecenoic acid, a penetration stimulant. *Experimental Parasitology*, 58: 215-222, 1984.

HAAS, W. Physiological analyses of cercarial behaviour. *The* Journal of Parasitol*ogy*, 2: 243-255, 1992.

HAAS, W. Physiological analyses of host-finding behaviour in trematode cercariae: adaptations for transmission success. *Parasitology*, 109: S15-S29, 1994.

HAAS, W. & SCHMITT, R. Characterization of chemical stimuli for the penetration of *Schistosoma mansoni* cercariae. I. Effective substances, host specificity. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 66: 293-307, 1982a.

HAAS, W. & SCHMITT, R. Characterization of chemical stimuli for the penetration of *Schistosoma mansoni* cercariae. II. Conditions and mode of action. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 66: 309-319, 1982b.

HAAS, W.; GRANZER, M. & BROCKELMAN, C. Finding and recognition of the bovine host by the cercariae of *Schistosoma spindale*. *Parasitology Research*, 76: 343-350, 1990.

HAAS, W. et al. *Schistosoma haematobium* cercarial host-finding and host-recognition differs from that of *S. mansoni*. *The* Journal of Parasitol*ogy*, 80: 345-353, 1994.

HAAS, W. et al. *Schistosoma mansoni* cercariae: stimulation of acetabular gland secretion is adapted to the chemical composition of mammalian skin. *The* Journal of Parasitol*ogy*, 83: 1079-1085, 1997.

HAAS, W. et al. Recognition and invasion of human skin by *Schistosoma mansoni* cercariae: the key role of L-arginine. *Parasitology*, 124: 153-167, 2002.

HAGEDORN, H. H. The role of ecdysteroids in reproduction. In: KERKUT, G. A. & GILBERT, L. I. (Eds.) *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. Oxford: Pergamon Press, 1975. v. 8.

HARA, I. et al. Role of calcium in *Schistosoma mansoni* cercarial tail loss induced by unsaturated fatty acids. *The Journal of Parasitology*, 79: 504-509, 1993.

HARRISON, D. G. Perspective series: nitric oxide and nitric oxide synthases: cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction. *The Journal of Clinical Investigation*, 100: 2.153-2.157, 1997.

HASEEB, M. A. & EVELAND, E. K. *Schistosoma mansoni*: a chemoattractive factor released by males and its receptor in females. *Experientia*, 47: 970-974, 1991.

HASEEB, M. A.; FRIED, B. & EVELAND, L. K. *Schistosoma mansoni*: female-dependent lipid secretion in males and corresponding changes in lipase activity. *International Journal for Parasitology*, 19: 705-709, 1989.

HOCKLEY, D. J. & MCLAREN, D. J. *Schistosoma mansoni*: changes in the outer membrane of the tegument during development from cercária to adult worm. *International Journal for Parasitology*, 3: 13-25, 1973.

HOFFMANN, E. K. & SIMONSEN, L. O. Membrane mechanisms in volume and pH regulation in vertebrate cells. *Physiological Reviews*, 69: 315-382, 1989.

HOMEWOOD, C. A.; JEWSBURY, J. M. & CHANCE, M. L. The pigment formed during haemoglobin digestion by malarial and schistosomal parasites. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, 43: 517-523, 1972.

HORTA, M. F.; RAMALHO-PINTO, F. J. & FATIMA, M. 1991. Role of human decay-accelerating factor in the evasion of *Schistosoma mansoni* from the complement-mediated killing in vitro. *The Journal of Experimental Medicine*, 174: 1.399-1.406, 1972.

HOWELLS, R. E. et al. *Schistosoma mansoni*: mechanism of cercarial tail loss and its significance to host penetration. *Experimental Parasitology*, 36: 373-385, 1974.

HOWELLS, R. E. et al. *Schistosoma mansoni*: tail loss in relation to permeability changes during cercaria-schistosomulum transformation. *Parasitology*, 71: 9-18, 1975.

HUBBARD, W. J. Alpha-2-macroglobulin-enzyme complexes as suppressors of cellular activity. *Cellular Immunology*, 39: 388-394, 1978.

INCANI, R. N. & MCLAREN, D. J. Histopathological and ultrastructural studies of cutaneous reactions elicited in naïve and chronically infected mice by invading schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *International Journal for Parasitology*, 14: 259-276, 1984.

INGRAM, R. J. et al. Penetration of human skin by the cercariae of *Schistosoma mansoni*: an investigation of the effect of multiple cercarial applications. *Journal of Helminthology*, 77: 27-31, 2003.

JAMES, S. L. & GLAVEN, J. Macrophage cytotoxicity against schistosomula of *Schistosoma mansoni* involves arginine-dependent production of reactive nitrogen intermediates. *Journal of Immunology*, 143: 4208-4212, 1989.

JAMES, S. L. & SHER, A. Immune mechanisms that stimulate mouse leukocyte migration in response to schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *Journal of Immunology*, 124: 1.837-1.844, 1980.

JAMES, S. L. & BOROS, D. L. Immune effector role of macrophages in experimental *Schistosomiasis mansoni*. *Immunology Series*, 60: 461-473, 1994.

JOSEPH, M. et al. A new function for platelets: IgE-dependent killing of schistosomes. *Nature*, 303: 810-813, 1983.

KANE, L. A. & MOST, H. Schistosomiasis in the central nervous system: experiences in World War II and a review of the literature. *Archives of Neurology and Psychiatry*, 59: 141-183, 1948.

KANSKY, A. Über den Glucosegehalt der Haut von Psoriasis-vulgaris-Kranken und Normalpersonen. *Dermatol Wochenschr*, 152: 239, 1966.

KARANJA, D. M. et al. Studies on schistosomiasis in western Kenya: I. Evidence for immune-facilitated excretion of schistosome eggs from patients with *Schistosoma mansoni* and human immunodeficiency virus coinfections. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 56: 515-521, 1997.

KASSCHAU, M. R.; ROBINSON, D. C. & DRESDEN, M. H. *Schistosoma mansoni*: activation of hemolytic activity in hemogenates from live adult worms. *Experimental Parasitology*, 62: 442-449, 1986.

KASSIS, A. I.; AIKAWA, M. & MAHMAOUD, A. F. Mouse antibody-dependent eosinophil and macrophage adherence and damage to schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *Journal of Immunology*, 122: 398-405, 1979.

KATZ, S. P. & COLLEY, D. G. Analysis of the intradermal response against a soluble cercarial antigenic preparation from *Schistosoma mansoni*. *Infection and Immunity*, 14: 509-521, 1976a.

KATZ, S. P. & COLLEY, D. G. Induction of cellular and humoral immunological responsiveness to a soluble cercarial antigen preparation from *Schistosoma mansoni*. *Infection and Immunity*, 14: 502-508, 1976b.

KEMP, W. M. et al. Immunocytochemical localization of mouse alpha 2-macroglobulin like antigenic determinants on *Schistosoma mansoni* adults. *The Journal of Parasitology*, 62: 413-419, 1976.

KEMP, W. M. et al. Evidence for adsorption of heterospecific host immunoglobulin on the tegument of *Schistosoma mansoni*. *Journal of Immunology*, 119: 1849-1854, 1977.

KHAMMO, N. et al. The attachment of *Schistosoma mansoni* cercariae to human skin cells. *Parasitology*, 124 (1): 25-30, 2002.

KIERSZENBAUM, A. L. *Histology and Cell Biology: an introduction to pathology*. St. Louis: Mosby, 2002.

KOHN, A. B. et al. Specific sites in the Beta Interaction Domain of a schistosome Ca2+ channel beta subunit are key to its role in sensitivity to the anti-schistosomal drug praziquantel. *Parasitology*, 127: 349-356, 2003.

KOPPISCH, E. Studies on schistosomiasis in Puerto Rico. IV. The pathological anatomy of experimental *schistosomiasis mansoni* in the rabbit and albino rat. *Journal of Public Health and Tropical Medicine*, 13: 1-54, 1937.

KOSTER, B. et al. Identification and localisation of the products of a putative eggshell precursor gene in the vitellarium of *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 31: 183-198, 1988.

KOWALSKI, T. J.; WU, G. & WATFORD, M. Rat adipose tissue amino acid metabolism *in vivo* as assessed by microdialyis and arteriovenous techniques. *The American Journal of Physiology*, 273: E613-E622, 1997.

KRUGER, S. P. et al. The route of migration of *Schistosoma mattheei* from lungs to the liver in sheep. *Journal of the South African Veterinary Medical Association*, 40: 39-43, 1969.

LANAR, D. E. et al. Identification of paramyosin as schistosome antigen recognized by intradermally vaccinated mice. *Science*, 234 (4.776): 593-596, 1986.

LATKOWSKI, J. M. & FREEDBERG, I. M. Epidermal cell kinetics, epidermal differentiation, and keratinization. In: FREEDBERG, I. M. et al. *Dermatology in General Medicine*. 5. ed. New York: McBraw-Hill, 1999.

LAWRENCE, J. D. The ingestion of red blood cells by *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology*, 59: 60-63, 1973.

LAWSON, J. R. & WILSON, R. A. Metabolic changes associated with the migration of the schistosomulum of *Schistosoma mansoni* in the mammalian host. *Parasitology*, 81: 325-336, 1980.

LEJOLY-BOISSEAU, H. et al. *Schistosoma mansoni*: *in vitro* adhesion of parasite eggs to the vascular endothelium. Subsequent inhibition by a monoclonal antibody directed to a carbohydrate epitope. *Experimental Parasitology*, 91: 20-29, 1999.

LENZI, H. L. & VANNIER-SANTOS, M. A. Interface Parasito-hospedeiro. Coabitologia: uma visão diferente do fenômeno parasitismo. In: COURA, J. R. (Org.) *Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. v. 1.

LENZI, H. L.; LENZI, J. A. & SOBRAL, A. C. L. Eosinophils favor the passage of eggs to the intestinal lumen in schistosomiasis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 20:433-435, 1987.

LENZI, H. L.; SOBRAL, A. C. L. & LENZI, J. A. Participation of endothelial cells in murine schistosomiasis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 21: 999-1.003, 1988.

LENZI, H. L. et al. Immunological system and *Schistosoma mansoni*: Co-evolutionary immunobiology. What is the eosinophil role in parasite-host relationship? *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92, supl. II: 19-32, 1997.

LENZI, H. L. et al. Histoarchitecture of schistosomal granuloma development and involution: morphogenetic and biomechanical approaches. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93, supl. 1: 141-151, 1998.

LENZI, J. A. *Estudo do Modelo* Calomys callosus *Renger, 1830 (Rodentia: Cricetidae) na Infecção por* Schistosoma mansoni *Sambon, 1907. Parâmetros parasitológicos e histopatológicos*, 1998. Tese de Doutorado, Salvador: Universidade Federal da Bahia.

LEWERT, R. M. & MANDLOWITZ, S. Innate immunity to *Schistosoma mansoni* relative to the state of connective tissue. *Annals of the New York Academy of Science*, 113: 54-62, 1963.

LEWIS, F. A.; CARTER, C. E. & COLLEY, D. G. Eosinophils and immune mechanisms. V. Demonstration of mouse spleen cell-derived chemotactic activities for eosinophils and mononuclear cells and comparisons with eosinophil stimulation promoter. *Cellular Immunology*, 32: 86-96, 1977.

LOEFFLER, D. A. et al. Soluble egg antigens from *Schistosoma mansoni* induce angiogenesis-related processes by up-regulating vascular endothelial growth factor in human endothelial cells. *The Journal of Infectious Diseases*, 185: 1.650-1.656, 2002.

LOUKAS, A et al. Receptor for Fc on the surfaces of schistosomes. *Infection and Immunity*, 69: 3.646-3.651, 2001.

LOZZI, S. P. et al. Involvement of regional lymph nodes after penetration of *Schistosoma mansoni* cercariae in naive and infected mice. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 91: 491-498, 1996.

MACHADO, A. J. et al. *Schistosoma mansoni*: The role of the complement C3-activating system in the cercaricidal action of normal serum. *Experimental Parasitology*, 38: 20-29, 1975.

MACKAY, I. R. Hepatoimmunology: a perspective. *Immunology and Cell Biology*, 80: 36-44, 2002.

MAGALHÃES-FILHO, A. Pulmonary lesions in mice experimentally infected with *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 8: 527-535, 1959.

MANGOLD, B. L. & DEAN, D. A. Autoradiographic analysis of *Schistosoma mansoni* migration from skin to lungs in naive mice. Evidence that most attrition occurs after the skin phase. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 32: 785-789, 1983.

MATSUMOTO, Y. et al. Paramyosin and actin in schistosomal teguments. *Nature*, 333: 76-68, 1988.

MAZINGUE, C. et al. *In vitro* and *in vivo* inhibition of mast cell degranulation by a factor from *Schistosoma mansoni*. *International Archives of Allergy and Applied Immunology*, 63: 178-189, 1980.

MAZINGUE, C. et al. Effect of schistosome-derived inhibitory factor on the cell cycle of T lymphocytes. *International Archives of Allergy and Applied Immunology*, 63: 12-18, 1987.

MCHUGH, S. M.; COULSON, P. S. & WILSON, R. A. 1987. The relationship between pathology and resistance to reinfection with *Schistosoma mansoni* in mice: a causal mechanism of resistance in chronic infections. *Parasitology*, 94(1): 81-91, 1987.

MCKERROW, J. H. Parasite proteases. *Experimental Parasitology*, 68: 111-115, 1989.

MCKERROW, J. H. & DOENHOFF, M. J. Schistosome proteases. *Parasitology Today*, 4: 334-339, 1988.

MCKERROW, J. H. & SALTER, J. Invasion of skin by *Schistosoma* cercariae. *Trends in Parasitology*, 18: 193-195, 2002.

MCKERROW, J. H. et al. Proteinases from invasive larvae of the trematode parasite *Schistosoma mansoni* degrade connective-tissue and basement-membrane macromolecules. *The Biochemical Journal*, 231: 47-51, 1985.

MCLAREN, D. J. Schistosoma mansoni*: the parasite surface in relation to host immunity*. New York: Research Studies Press, 1980.

MCLAREN, D. J. & SMITHERS, S. R. Serum from CBA/Ca mice vaccinated with irradiated cercariae of *Schistosoma mansoni* protects naive recipients through the recruitment of cutaneous effector cells. *Parasitology*, 97(2): 287-302, 1988.

MICHAELS, R. M. Mating of *Schistosoma mansoni* in vitro. *Experimental Parasitology*, 25: 58-71, 1969.

MICHAELS, R. M. & PRATA, A. Evolution and characteristics of *Schistosoma mansoni* eggs laid *in vitro*. *The* Journal of Parasitol*ogy*, 54: 921-930, 1968.

MILLER, P. & WILSON, R. A. Migration of the schistosomula of *Schistosoma mansoni* from skin to lungs. *Parasitology*, 77: 281-302, 1978.

MILLER, P. & WILSON, R. A. Migration of schistosomula of *Schistosoma mansoni* from the lungs to the hepatic portal system. *Parasitology*, 80: 267-288, 1980.

MIYAGAWA, Y. Über den Wanderungsweg des *Schistosmum japonicum* von der Haut bis zum Pfortadersystem, und Über die körperkonstitution der jüngsten würmer zur zeit der Hautinvasion. *Zentralblatt für Bakteriologie*, I(66): 406-417, 1912.

MIYAGAWA, Y. & TAKEMOTO, S. The mode of infection of *Schistosomum japonicum* and the principal route of its journey from the skin to the portal vein in the host. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, 24: 168-174, 1921.

MJOKI, G. M.; SMITH, J. M. & PRICHARD, R. K. Antioxidant systems in *Schistosoma mansoni*: evidence for their role in protection of the adult worms against oxidant killing. *International Journal for Parasitology*, 18: 667-673, 1988.

MODHA, J. et al. Schistosomes: unanswered questions on the basic biology of the host-parasite relationship. *Parasitology Today*, 14: 396-401, 1998.

MONÉ, H. & BOISSIER, B. Sexual biology of schistosomes. *Advances in Parasitology*, 57: 89-189, 2004.

MOORE, D. V. & SANDGROUND, J. H. The relative egg producing capacity of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 5: 831-840, 1956.

MORAND, S. & MÜLLER-GRAF, C. D. Muscles or testes? Comparative evidence for sexual competition among dioecious blood parasites (Schistosomatidae) of vertebrates. *Parasitology*, 120: 45-56, 2000.

MORIEARTY, P. L. & LEWERT, R. M. Delayed hypersensitivity in Ugandan schistosomiasis. I. Sensitivity, specificity and immunological features of intradermal responses. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 23: 169-178, 1974.

MOUNTFORD, A. P. & TROTTEIN, F. Schistosomes in the skin: a balance between immune priming and regulation. *Trends in Parasitology*, 20: 221-226, 2004.

MURREL, K. D.; VANNIER, W. E. & AHMED, A. *Schistosoma mansoni*: antigenic heterogeneity of excretions and secretions. *Experimental Parasitology*, 36: 316-330, 1974.

MURREL, K. D. et al. *Schistosoma mansoni* analysis of surface membrane carbohydrates using lectins. *Experimental Parasitology*, 46: 247-255, 1978.

NARABAYASHI, M. On the migratory course of *Schistosoma japonicum* in the body of the final host. *Kyoto Igakkai Zasshi*, 12: 153, 1914.

NASH, T. E. Antibody response to a polysaccharide antigen present in the schistosome gut. I. Sensitivity and specificity. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 27: 939-943, 1978.

NASH, T. E. Factors that modulate clearance and ultimate fate of a specific schistosome antigen (GASP) in schistosome infections. *Journal of Immunology*, 128: 1.608-1.613, 1982.

NASH, T. E. Fate and mechanism of clearance of PSAP, a schistosome antigen, in schistosomiasis. *Journal of Immunology*, 131: 2.520-2.523, 1983.

NASH, T. E.; NASIR, U. D. & JEANLOZ, R. W. Further purification and characterization of a circulating antigen in schistosomiasis. *Journal of Immunology*, 119: 1627-1633, 1977.

NASH, T. E.; PRESCOTT, B. & NEVA, F. A. The characteristics of a circulating antigen in schistosomiasis. *Journal of Immunology*, 112: 1500-1507, 1974.

NEVES, R. H. et al. A new description of the reproductive system of *Schistosoma mansoni* (Trematoda: Schistosomatidae) analyzed by confocal laser scanning microscopy. *Parasitology Research*, 95: 43-49, 2005.

NEWPORT, G. et al. Schistosome elastases: biological importance, structure, function and stage-specific expression. *Biochemical Society Symposium*, 53: 115-121, 1987.

NEWPORT, G. R. et al. Cloning of the proteinase that facilitates infection by schistosome parasites. *The Journal of Biological Chemistry*, 263: 13.179-13.184, 1988.

NGAIZA, J. R. & DOENHOFF, M. J. Blood platelets and schistosome egg excretion. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 193(1): 73-79, 1990.

NIRDE, P. et al. Ecdysone and 20 hydroxyecdysone: new hormones for the human parasite *Schistosoma mansoni*. *FEBS Letters*, 151: 223-227, 1983.

OLIVEIRA, M. F. et al. Haemozoin in *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 111: 217-221, 2000.

OLIVEIRA, M. F. et al. Inhibition of heme aggregation by chloroquine reduces *Schistosoma mansoni* infection. *The Journal of Infectious Diseases*, 190: 843-852, 2004.

OLIVIER, L. A comparison of infections in mice with three species of schistosomes, *Schistosoma mansoni, Schistosoma japonicum* and *Schistosomatium douthitti*. *American Journal of Hygiene*, 55: 22-35, 1952.

OLIVIER, L. Infectivity of *Schistosoma mansoni* cercariae. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 15: 882-885, 1966.

OLVEDA, R. M.; OLDS, G. R. & MAHMAOUD, A. A. F. Quantification, dynamics, and mechanisms of pulmonary inflammatory response around schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Pathology*, 104: 150-158, 1981.

OSWALD, I. P. et al. Endothelial cells are activated by cytokine treatment to kill an intravascular parasite, *Schistosoma mansoni*, through the production of nitric oxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 91: 999-1003, 1994a.

OSWALD, I. P. et al. No as an effector molecule of parasite killing: modulation of its synthesis by cytokines. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, 57: 243-247, 1994b.

OTTESEN, E. A. & POINDEXTER, R. W. Modulation of the host response in human schistosomiasis. II. Humoral factors which inhibit lymphocyte proliferative responses to parasite antigens. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 29: 592-597, 1980.

OTTESEN, E. A. et al. The acquisition and loss of antigen-specific cellular immune responsiveness in acute and chronic schistosomiasis in man. *Clinical and Experimental Immunology*, 33: 38-47, 1978.

PAGE, C. R. & NEWPORT, G. R. Arginase and ornithine carbamoyltransferase activity in serum and liver of mice infected with *Schistosoma mansoni*. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, 57: 243-247, 1977.

PEARCE, E. J. & MCLAREN, D. J. *Schistosoma mansoni*: the cutaneous response to cercarial challenge in naive guinea pigs and guinea pigs vaccinated with highly irradiated cercariae. *International Journal for Parasitology*, 16: 491-510, 1986.

PELLEGRINO, J. & COELHO, P. M. Z. *Schistosoma mansoni*: wandering capacity of a worm couple. *The* Journal of Parasitol*ogy*, 64: 181-182, 1978.

PELLEGRINO, J. & KATZ, N. Infection of baby mice with *Schistosoma mansoni*: some biological aspects in connection with experimental chemotherapy. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 63: 568-575, 1969.

PELLEGRINO, J. & MEMORIA, J. M. P. A reação intradérmica na esquistossomose mansônica. I. Ensaios comparativos com antígenos de cercaria, verme adulto, ovo e miracídio. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 2: 171-176, 1960.

PELLEGRINO, J. et al. New approach to the screening of drugs in experimental schistosomiasis mansoni in mice. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 11: 201-215, 1962.

PENG, M.; LU, W. & KIRBY, E. P. Characterization of three alboaggregins purified from *Trimeresurus albolabris* venom. *Thrombosis and Haemostasis*, 67: 702-707, 1992.

PENG, M. et al. Echicetin: a snake venom protein that inhibits binding of von Willibrand Factor and Alboaggregins to platelet Glycoprotein Ib. *Blood*, 81: 2.321-2.328, 1993.

PEREIRA, L. H. et al. Migration of *Schistosoma mansoni* larvae in the albino mouse. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 14: 306-309, 1972.

PEREZ, H. & SMITHERS, S. R. *Schistosoma mansoni* in the rat: the adherence of macrophages to schistosomula *in vitro* after sensitization with immune serum. *International Journal for Parasitology*, 7: 315-320, 1977.

PERTTILA, J.; SANO, M. & PELTOLA, O. Plasma fibronectin concentrations in blood products. *Intensive Care Medicine*, 16: 41-43, 1990.

PICA-MATTOCCIA, L. et al. Changes of mate occur in *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 120: 495-500, 2000.

PINTO, C. & ALMEIDA, A. F. Penetração das cercárias de *Schistosoma mansoni* na pele de *Canis familiaris* e do homem. *Revista Brasileira de Biologia*, 5: 219-229, 1945.

PINTO, C. & ALMEIDA, A. F. *Schistosomiasis mansoni* no Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 5: 287, 1948.

POHL, U. & DE WIT, C. A unique role of NO in control of boold flow. *News in Physiological Sciences*, 14: 74-80, 1999.

POPIEL, I. & BASCH, P. F. Reproductive development of female *Schistosoma mansoni* (Digenea: Schistosomatidae) following bisexual pairing of worms and worm segments. *The Journal of Experimental Zoology*, 232: 141-50, 1984a.

POPIEL, I. & BASCH, P. F. Putative polypeptide transfer from male to female *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 11: 179-188, 1984b.

PRATA, A. *Biópsia Retal na esquistossomose mansônica. Bases e Aplicações no Diagnóstico e Tratamento*, 1957. Tese de Doutorado, Rio de Janeiro: Serviço Nacional de Educação Sanitária, Ministério da Saúde.

RAMALHO-PINTO, F. J.; DE SOUZA, J. B. & PLAYFAIR, J. H. L. Stimulation and suppression of response of mouse T cells to the Schistosomules of *Schistosoma mansoni* during infection. *Nature*, 259: 603-604, 1976.

RAMALHO-PINTO, F. J.; MCLAREN, D. J. & SMITHERS, S. R. Complement-mediated killing of schistosomula of *Schistosoma mansoni* by rat eosinophils *in vitro*. *The Journal of Experimental Medicine*, 147: 147-156, 1978.

RAMALHO-PINTO, F. J.; SMITHERS, S. R. & PLAYFAIR, J. H. L. Carrier effect during the course of experimental schistosomiasis: suppression of the response to TNP-schistosomula in rats and inbred mice. *Journal of Immunology*, 123: 507-514, 1979.

RAMALHO-PINTO, F. J. et al. *Schistosoma mansoni*: a defined system for the step-wise transformation of the cercaria to schistosomule *in vitro. Experimental Parasitology*, 36: 360-372, 1974.

RAMALHO-PINTO, F. J. et al. Factors affecting surface changes in intact cercariae and cercarial bodies of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 71: 19-25, 1975.

RAMALHO-PINTO, F. J. et al. T-cell helper response to antigens of *Schistosoma mansoni* in CBA mice. *Clinical and Experimental Immunology*, 26: 327-333, 1976.

RIBEIRO-DOS-SANTOS, G; VERJOVSKI-ALMEIDA, S. & LEITE, L. C. Schistosomiasis – a century searching for chemotherapeutic drugs. *Parasitology Research*, 99(5): 505-521, 2006.

RIBEIRO-PAES, J. T. & RODRIGUES, V. Sex determination and female reproductive development in the genus *Schistosoma*: a review. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 39: 337-344, 1997.

RIENGROJPITAK, S.; ANDERSON, S. & WILSON, R. A. Induction of immunity to *Schistosoma mansoni*: interaction of schistosomula with accessory leucocytes in murine skin and draining lymph nodes. *Parasitology*, 117: 301-309, 1998.

ROBERTS, L. S. & JANOVY JR. J. *Foundations of Parasitology*. 5. ed. New York: McGran-Hill, 1999.

RODRIGUES-SILVA, R. Nectomys squamipes *e* Akodon arviculoides *(Rodentia: Cricetidae) como Hospedeiros Naturais do* Schistosoma mansoni *em Sumidouro (RJ, Brasil): emprego do* Nectomys *como modelo alternativo no estudo da esquistossomose mansônica*, 1989. Dissetação de Mestrado, Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz.

ROSKAMS, T. et al. Neuroregulation of neuroendocrine compartment of the liver. *The Anatomical Record Part A*, 280A: 910-923, 2004.

ROTMANS, J. P. et al. *Schistosoma mansoni*: characterization of antigens in excretions and secretions. *Experimental Parasitology*, 52: 171-182, 1981.

RUPPEL, A. et al. *Schistosoma mansoni*: complement activation in human and rodent sera by living parasites of various developmental stages. *Parasitology*, 87 (1): 75-86, 1983.

SALADIN, K. S. *Schistosoma mansoni*: cercarial responses to irradiance changes. *The Journal of Parasitology*, 68: 120-124, 1982.

SALAFSKY, B. & FUSCO, A. Eiconasoids as immunomodulators of penetration by schistosome cercariae. *Parasitology Today*, 3: 279-281, 1987.

SALAFSKY, B. et al. *Schistosoma mansoni*: analysis of cercarial transformation methods. *Experimental Parasitology*, 67: 116-127, 1988.

SALTER, J. P. et al. Schistosome invasion of human skin and degradation of dermal elastin are mediated by a single serine protease. *The Journal of Biological Chemistry*, 275: 38.667-38.673, 2000.

SANTORO, F. et al. Parasite M antigen in milk from mothers infected with *Schistosoma mansoni*. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 71: 121-123, 1977.

SANTORO, F. et al. Interaction between *Schistosoma mansoni* and the complement system: binding of C1q to schistosomula. *Journal of Immunology*, 124: 2886-2891, 1980.

SAOUD, M. F. A. The infectivity and pathogenicity of geographical strains of *Schistosoma mansoni*. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 60: 585-599, 1966.

SCICLI, A. G. et al. Blood kinins, their concentration in normal subjects and in patients with congenital deficiency in plasma prekallikrein and kininogen. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 100: 81-93, 1982.

SENFT, A. W. Studies in arginine metabolism by schistosomes-I. Arginine uptake and lysis by *Schistosoma mansoni*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 18: 209-216, 1966.

SENFT, A. W. Studies in arginine metabolism by schistosomes-II. Arginine depletion in mammals and snail infected with *S. mansoni* or *S. haematobium*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 21: 299-306, 1967.

SENSHU, T. et al. Detection of deiminated proteins in rat skin: probing with a monospecific antibody after modification of citrulline residues. *The Journal of Investigative Dermatology*, 105: 163-169, 1995.

SENSHU, T. et al. Preferential deimination keratin K1 and filaggrin during the terminal differentiation of human epidermis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 225: 712-719, 1996.

SHAW, J. R.; MARSHALL, I. & ERASMUS, D. A. *Schistosoma mansoni*: *in vitro* stimulation of vitelline cell development by extracts of male worms. *Experimental Parasitology*, 42: 14-20, 1977.

SHER, A.; HALL, B. F. & VADAS, M. A. Acquisition of murine major histocompatibility complex gene products by schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Experimental Medicine*, 148: 46-57, 1978.

SHER, A. et al. Dichotomy in the tissue origin of schistosome acquired class I and class II major histocompatibility antigens. *The Journal of Experimental Medicine*, 159: 952-957, 1984.

SHIFF, C. J. et al. The influence of human skin lipids on the cercarial penetration responses of *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology*, 58: 476-480, 1972.

SILVA, C. L. M. et al. Cellular mechanisms involved in the increased contraction of portal veins from *Schistosoma mansoni*-infected mice. *Parasitology Research*, 89: 16-22, 2003.

SILVEIRA, A. M.; FRICHE, A. A. & RUMJANEK, F. D. Transfer of [14C] cholesterol and its metabolites between adult male and female worms of *Schistosoma mansoni*. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, 85: 851-857, 1986.

SMITH, M. A. et al. Lung inflammation in immunity to *Schistosoma mansoni*. *Experientia*, 31: 595-597, 1975.

SMITHERS, S. R. & GAMMAGE, K. Recovery of *Schistosoma mansoni* from the skin, lungs and hepatic portal system of naive mice and mice previously exposed to *S. mansoni*: evidence for two phases of parasite attrition in immune mice. *Parasitology*, 80: 289-300, 1980a.

SMITHERS, S. R. & TERRY, R. J. 1965. The infection of laboratory hosts with cercariae of *Schistosoma mansoni* and the recovery of the adult worms. *Parasitology*, 55: 695-700, 1980b.

SPENCE, I. M. & SILK, M. H. Ultrastructural studies of the blood fluke – *Schistosoma mansoni*. V. The female reproductive system – a preliminary report. *The South African Journal of Medical Sciences*, 36: 41-50, 1971.

SPIER, H. W. & SCHWARZ, E. Chemie der Hornschicht. In: PROCEEDING INTERNATIONAL CONGRESS OF DERMATOLOGY, 11, sect. XII 1, 1963, Washington. *Anais*... Washington, 1963.

STANDEN, O. D. Experimental shistosomiasis. II – Maintenance of *Schistosoma mansoni* in the laboratory, with some notes on experimental infection with *S. haematobium*. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 43: 268-283, 1949.

STANDEN, O. D. The penetration of the cercariae of *Schistosoma mansoni* into the skin and lymphatics of the mouse. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 47: 292-298, 1953.

STANDEN, O. D. Drug activity against trematodes. *The Journal of Parasitology,* 57: 108-115, 1971.

STENGER, R. J.; WARREN, K. S. & JOHNSON, E. A. An ultrastructural study of hepatic granulomas and schistosome egg shells in murine hepatosplenic schistosomiasis mansoni. *Experimental and Molecular Pathology*, 7: 116-132, 1967.

STIREWALT, M. A. Chronological analysis, pattern, and rate of migration of cercariae of *Schistosoma mansoni* in body, ear and tail skin of mice. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 53: 400-413, 1959.

STIREWALT, M. A. Skin penetration mechanisms of helminthes. In: SOULSBY, E. J. L. *Biology of Parasites*. New York: Academic Press, 1966.

STIREWALT, M. A. Penetration stimuli for schistosome cercariae. In: CHENG, T. C. *Aspects of the Biology of Symbiosis*. Baltimore: University Park Press, 1971.

STIREWALT, M. A. *Schistosoma mansoni*: cercaria to schistosomule. *Advances in Parasitology*, 12: 115-182, 1974.

STIREWALT, M. A. Biochemical and physiological aspects of skin penetration by schistosomes. In: STRICKLAND, G. T. & HUNTER JUNIOR, K. W. *Immunoparasitology: principles and methods in malaria and schistotomiasis research*. Westport: Praeger Publishers, 1982.

STIREWALT, M. A. & DORSEY, C. H. *Schistosoma mansoni*: cercarial penetration of host epidermis at the ultrastructural level. *Experimental Parasitology*, 35: 1-15, 1974.

STIREWALT, M. A. & FREGEAU, W. A. Effect of selected experimental conditions on penetration and maturation of *Schistosoma mansoni* in mice. I. Environmental. *Experimental Parasitology*, 17(2): 168-179, 1965.

STIREWALT, M. A. & HACKEY, J. R. Penetration of host skin by cercariae of *Schistosoma mansoni.* I. Observed entry into skin of mouse, hamster, rat, monkey, man. *The Journal of Parasitology*, 42: 565-580, 1956.

STORM, C. A. & ELDER, D. E. Pele. In: RUBIN, E. *Patologia: bases clinicopatológicas da medicina*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

STURROCK, R. F. The parasites and their life-cycles. In: JORDAN, P.; WEBBE, G. & STURROCK, R. F. *Human Schistosomiasis*. Wallingford: CAB International, 1993.

TANABE, M.; KANEKO, N. & TAGEUCHI, T. *Schistosoma mansoni*: suppression of carbamoyl phosphate synthetase (ammonia) and ornithine carbamoyltransferase activities in the liver of infected mice. *Experimental Parasitology*, 68: 432-442, 1989

TANG, C. C.; TANG, C. T. & TANG, C. Studies on the migratory route of *Schistosoma japonicum* in its final host. *Dong Wu Xue Bao [Acta Zoologica Sinica]*, 19: 323-340, 1973.

TARLETON, R. L. & KEMP, W. M. Demonstration of IgG-Fc and C3 receptors on adult *Schistosoma mansoni*. *Journal of Immunology*, 126: 379-384, 1981.

TCHUEM TCHUENTE, L. A. et al. Choice of mate, a reproductive isolating mechanism between *Schistosoma intercalatum* and *S. mansoni* in mixed infections. *International Journal for Parasitology*, 23: 179-185, 1993.

TCHUEM TCHUENTE, L. A. et al. Change of mate and mating competition between males of *Schistosoma intercalatum* and *S. mansoni*. *Parasitology*, 110: 45-52, 1995.

TENDLER, M. & SCAPIN, M. The presence of *Schistosoma mansoni* antigen in solutions used for storing adult worms. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 21: 293-296, 1979.

THATTE, H. S. et al. *Schistosoma mansoni*: membranes from adult worms reversibly perturb shape, volume, and membrane organization of intact human red blood cells. *Experimental Parasitology*, 76: 13-22, 1993.

TIESSEN, R. G.; RHEMREV-BOOM, M. M. & KORF, J. Glucose gradient differences in subcutaneous tissue of healthy volunteers assessed with ultraslow microdialysis and a nanolitre glucose sensor. *Life Sciences*, 21: 2.457-2.466, 2002.

TIRONE, T. A. & BRUNICARDI, F. C. Overview of glucose regulation. *World Journal of Surgery*, 25: 461-467, 2001.

TODD, C. W.; GOODGAME, R. W. & COLLEY, D. G. Immune responses during human schistosomiasis mansoni. V. Supression of schistosome antigen-specific lymphocyte blastogenesis by adherent/phagocytic cells. *Journal of Immunology*, 122: 1.440-1.446, 1979.

TORPIER, G.; CAPRON, A. & OUAISSI, M. A. Receptor for IgG(Fc) and human b2-microglobulin on *S. mansoni* schistosomula. *Nature*, 278: 447-449, 1979.

TRAGGER, W. *Living Together: the biology of animal parasitism*. New York: Plenum Press, 1986.

TSANG, V. C. W. & DAMIAN, R. T. Demonstration and mode of action of an inhibitor for activated Hageman factor (Factor XIIa) of the intrinsic blood coagulation pathways from *Schistosoma mansoni*. *Blood*, 49: 619-633, 1977.

TSANG, V. C. W.; HUBBARD, W. J. & DAMIAN, R. T. Coagulation factor XIIa (activated Hageman factor) inhibitor from adult *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 26: 243-247, 1977.

TZENG, S. et al. Degradation of purified skin keratin by a proteinase secreted from *Schistosoma mansoni* cercariae. *The Journal of Parasitology*, 69: 992-994, 1983.

UPATHAM, E. S. & STURROCK, R. F. Studies on the effects of cercarial concentration and length of exposure on the infection of mice by *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 67: 219-228, 1973.

VALADARES, T. E. et al. *Schistosoma mansoni*: aspectos da oviposição da cepa LE em camundongos infectados com um casal de vermes. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 23: 6-11, 1981.

VASCONCELOS, E. G. et al 1993. Characterization and localization of an ATP-diphosphohydrolase on the external surface of the tegument of *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 58: 205-14, 1981.

VERJOVSKI-ALMEIDA, S. et al. Transcriptome analysis of the acoelomate human parasite *Schistosoma mansoni*. *Nature Genetics*, 35: 148-157, 2003.

VOGEL, H. Über den Einfluss des Geschlechtspartners auf Wachsturm und Entwicklung bei *Bilharzia mansoni* und Kreuzpaarungen zwischen verschiedenen Bilharzia-Arten. *Zentralblatt für Bakteriologie*, 148: 78-96, 1941.

VON LICHTENBERG, F & RITCHIE, L. S. Cellular resistance against schistosomula of *Schistosoma mansoni* in *Macaca mulatta* monkeys following prolonged infection. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 10: 859-869, 1961.

VON LICHTENBERG, F. et al. Eosinophil enriched inflammatory responses to schistosomula in the skin of mice immune to *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 84: 479-500, 1976.

WARREN, K. S. The pathology, pathobiology and pathogenesis of schistosomiasis. *Nature*, 273: 609-612, 1978.

WARREN, K. S. & PETERS, P. A. Comparison of penetration and maturation of *Schistosoma mansoni* in the hamster, mouse, guinea-pig, and rat. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 16: 718-722, 1967.

WASILEWSKI, M. M. et al. Cysteine protease inhibitors block schistosome hemoglobin degradation *in vitro* and decrease worm burden and egg production *in vivo*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 81: 179-189, 1996.

WATSON, J. M. *Medical Helminthology*. London: Bailliére Tindall and Cox, 1960.

WHEATER, P. R. & WILSON, R. A. *Schistosoma mansoni*: a histological study of migration in the laboratory mouse. *Parasitology*, 79: 49-62, 1979.

WHITFIELD, P. J. et al. Delayed tail loss during the invasion of human skin by schistosome cercariae. *Parasitology*, 126: 135-140, 2003.

WILKS, N. E. Lung-to-liver migration of schistosomes in the laboratory mouse. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 16: 599-605, 1967.

WILSON, R. A. Cercariae to liver worms: development and migration in the mammalian host. In: ROLLINSON, D. & SIMPSON, A. J. G. *The Biology of Schistosomes: from genes to latrines*. London: Academic Press, 1987.

WILSON, R. A. & COULSON, P. S. *Schistosoma mansoni*: dynamics of migration through the vascular system of the mouse. *Parasitology*, 92: 83-100, 1986.

WILSON, R. A. & LAWSON, J. R. An examination of the skin phase of schistosome migration using a hamster cheek pouch penetration. *Parasitology*, 80: 257-266, 1980.

WILSON, R. A.; COULSON, P. S & DIXON, B. Migration of the schistosomula of *Schistosoma mansoni* in mice vaccinated with radiation-attenuated cercariae, and normal mice: an attempt to identify the timing and site of parasite death. *Parasitology*, 92: 101-116, 1986.

WILSON, R. A. et al. *Schistosoma mansoni*: the activity and development of the schistosomulum during migration from the skin to the hepatic portal system. *Parasitology*, 77: 57-73, 1978.

WILSON, R. A. et al. Schistosome migration in primates: a study in the olive baboon (*Papio anubis*). *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 84: 80-83, 1990.

YANG, M. Y.; DONG, H. F. & JIANG, M. S. Ultrastructural observation of spermatozoa and fertilization in *Schistosoma japonicum*. *Acta Tropica*, 85: 63-70, 2003.

YOLLES, T. K.; MOORE, D. V. & MELENEY, H. E. Post-cercarial development of *Schistosoma mansoni* in the rabbit and hamster after intra-peritoneal and percutaneous infection. *The Journal of Parasitology*, 35: 276-294, 1949.

YONG, W. K. & DAS, P. K. Acquisition of host proteins by the tegument of *Schistosoma mansoni* recovered from rats. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 69: 53-60, 1983.

ZIERLER, K. Whole body glucose metabolism. *The American Journal of Physiology*, 276: E409-E426, 1999.

ZUSSMAN, R. A.; BAUMAN, P. M. & PETRUSKA, J. C. The role of ingested hemoglobin in the nutrition of *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology*, 56: 75-79, 1970.

4 Evolução de *Schistosoma mansoni* no hospedeiro intermediário

Paulo Marcos Zech Coelho
Zilton de Araújo Andrade
Claudia Maria da Cunha Borges
Fábio Ribeiro
Luciene Barbosa

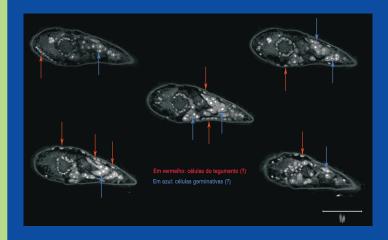



Foto de microscopia confocal do miracídio de *Schistosoma mansoni*. No detalhe, as células germinativas e células do tegumento. (Departamento de Patologia do IOC/Fiocruz).

Nos seus hospedeiros invertebrados, os caramujos do gênero *Biomphalaria*, *Schistosoma mansoni* desenvolve seu ciclo assexuado, que compreende complexos processos de multiplicação celular e mecanismos adaptativos. É necessária uma fina sintonia metabólico-fisiológica para que ocorra o fenômeno de uma forma microscópica, o miracídio, dar origem a centenas de milhares de formas infectantes, as cercárias, com dimensões já no limite da visibilidade humana.

EVOLUÇÃO DE *Schistosoma mansoni* EM *Biomphalari*a

Schistosoma mansoni pertence à subclasse Digenea, que congrega os trematódeos com complexos ciclos evolutivos. Nos hospedeiros intermediários, caramujos do gênero *Biomphalari*a, ocorre a multiplicação do parasito, resultado de uma sofisticada sintonia entre o metabolismo do hospedeiro e do parasito. Esta fina sintonia entre hospedeiro intermediário e parasito pode ser inferida pela estrita dependência entre linhagens geográficas de *S. mansoni* e respectivas linhagens geográficas, principalmente em relação a *Biomphalaria tenagophila* e *Biomphalaria straminea*, no continente americano. *Biomphalaria glabrata* e as espécies do gênero do continente africano, independentemente da origem geográfica, geralmente se infectam sem distinção de cepas geográficas do parasito. Comparando-se com a enorme variedade de espécies de hospedeiros vertebrados que pertencem a diversas ordens (primatas, roedores, carnívoros, artiodáctilos e insetívoros), fica patente que a interação de *S. mansoni* com seus hospedeiros intermediários reflete exigências adaptativas muito mais complexas. Assim, o sucesso evolutivo de *S. mansoni* em seus hospedeiros intermediários depende dos fatores ambientais, do comportamento biológico dos miracídios e hospedeiros intermediários, da compatibilidade fisiológica/bioquímica entre parasito/hospedeiro intermediário, dos mecanismos intrínsecos de defesa dos moluscos transmissores e dos mecanismos adaptativos do parasito ao organismo do molusco.

Ao atingirem o ambiente aquático, os ovos maduros de *S. mansoni* sofrem influência da baixa osmolaridade do meio, de estímulos luminosos e da temperatura ambiente, o que leva a intensos movimentos da larva e provoca a ruptura transversal da casca do ovo, permitindo assim eclosão do miracídio. A eclosão seria praticamente inibida na ausência de luminosidade e não ocorreria em temperaturas abaixo de 10°C e superiores a 37°C (Standen, 1951).

O miracídio é uma larva que apresenta uma intensa atividade natatória, tem forma cilíndrica e dimensões médias de 180 micrômetros de comprimento por 64 micrômetros de diâmetro. Apresenta células epidérmicas, onde se implantam os cílios, os quais permitem o movimento no meio aquático. Várias estruturas estão contidas no meio líquido do interior da larva. A extremidade anterior apresenta uma papila apical, ou terebratorium. No terebratorium encontram-se as terminações das glândulas adesivas, anteriormente denominadas 'glândulas de penetração', e as terminações da glândula de penetração, anteriormente denominadas 'tubo digestivo primitivo' ou 'saco digestivo'. Também encontram-se no terebratorium um conjunto de cílios maiores e espículos anteriores, provavelmente importantes no processo de penetração nos moluscos e, finalmente, terminações nervosas, que teriam funções tácteis e sensoriais (Ottolina, 1957).

O aparelho excretor é composto por 'células em labareda', ou 'células em chama'. Estas são em número de quatro, apresentando-se em pares, e estão ligadas por um sistema de canalículos que são drenados para uma ampola excretora, a qual termina no poro excretor.

O sistema nervoso é muito primitivo, e é representado por uma massa celular nervosa central, que se ramifica e se conecta com células nervosas periféricas por meio de cordões nervosos formados de células bipolares. A contratilidade e motilidade da larva são comandadas por esse sistema, que aciona a camada muscular subepitelial.

As células germinativas, em número de 50 a 100, darão continuidade ao ciclo do caramujo. Ottolina, em 1957, sugere que elas estariam dispostas em fileiras chamadas de cordões germinativos inseridos ao longo da parede interna do miracídio, entretanto, o trabalho posterior de Pan (1965) mostrou ser sua localização na parte posterior do miracídio, formando aglomerados de células (Figura 1).

Figura 1 – Células germinativas (denominadas anteriormente de células mucóides por Ottolina, 1957). Ovo maduro de *Schistosoma mansoni*. Giemsa 500X

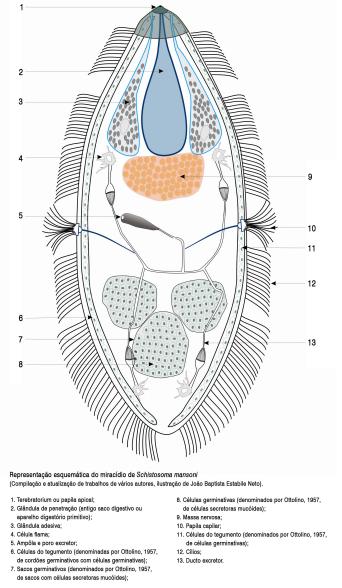



Foto: Henrique Leonel Lenzi e Mônica Panasco.

O miracídio após eclosão tem um tempo de vida de cerca de 8 horas; entretanto, após 5 horas poucos conseguem penetrar nos tecidos dos moluscos hospedeiros. Assim, existem aspectos comportamentais e químicos que favorecem o encontro da larva com seu hospedeiro-alvo. Quanto ao mecanismo quimiotático que leva ao encontro do miracídio com os seus hospedeiros intermediários, a literatura mostra ser este ainda um tema controverso. Deve-se considerar que, em muitos *habitats* onde ocorre a transmissão, as águas são correntes e isto dificulta um verdadeiro mecanismo de quimiotaxia, pela diluição e dispersão das moléculas de atração. Na verdade, o que ocorre é uma estimulação dos movimentos do miracídio pela presença de moléculas do caramujo na água (quimiocinesis) (Chernin, 1970, 1972, 1974). Há um acúmulo

de miracídios nas proximidades do caramujo, formando assim um 'espaço ativo' que, sem dúvida, favorece o processo de infecção (MacInnis, 1976; Saladin, 1979; Wilson, 1970; Chernin, 1970; Atena, 1988).

Uma glicoproteína de 80 KDa oriunda de *B. glabrata* estimula o movimento do miracídio com o aumento da captação de metionina (Dissous et al., 1986). Macromoléculas de glicoconjugados de até 300 KDa também podem atuar no comportamento do miracídio (Haberl & Haas, 1992; Haberl et al., 1995). Os estudos enzimáticos destes autores mostraram similaridades dos glicoconjugados com os glicosaminoglicanos, tais como a ocorrência de ácido murâmico, já demonstrada em outros moluscos gastropoda (Ottaviani, Bolognani Fantin & Bolognani, 1990).

O direcionamento do miracídio em relação ao seu hospedeiro intermediário depende da espécie e linhagem tanto do hospedeiro intermediário quanto do parasito, conforme os resultados de um trabalho que usou uma cepa de *S. mansoni* do Egito e duas do Brasil. Foi demonstrado que somente a linhagem egípcia apresentava comportamento de movimento direcional em face do alvo com substâncias obtidas da água de incubação de seus hospedeiros intermediários específicos, fenômeno este que não foi verificado com as duas linhagens brasileiras do parasito (Kalbe et al., 1996). Isso explica, pelo menos em parte, os resultados conflitantes da literatura.

Quanto ao comportamento similar que favoreceria o encontro entre parasito e hospedeiro, deve-se destacar a fototaxia positiva presente em ambos. A atração do miracídio a uma fonte luminosa foi bem estabelecida por diversos autores (Maldonado & Acosta-Matienzo, 1947; Standen 1949; Chaia, 1956).

No entanto, Williams & Coelho (1975) mostraram a ocorrência de fototaxia positiva em *B. glabrata*, fenômeno este confirmado por outros trabalhos (Pimentel-Souza et al., 1976a, 1976b, 1984). A fototaxia positiva que ocorre entre os miracídios e *B. glabrata* vai, sem dúvida, favorecer o encontro dos dois organismos no ambiente aquático. Além disso, o trabalho de Pimentel-Souza et al. (1976b) mostra que a luminosidade também estimula a exposição da massa cefalopodal do molusco no meio aquático, o que favoreceria o processo de infecção, já que são estas as partes preferidas para penetração miracidiana (Coelho, 1957).

A penetração do miracídio no molusco seria, também, fortemente dependente da temperatura. De fato, os resultados de Maldonado & Acosta-Maltienzo (1947) mostram que a redução de 1°C na temperatura (de 26°C para 25°C) levaria a uma redução na taxa de infecção dos moluscos de 80% para 40%.

A capacidade de penetração do miracídio restringe-se a cerca de 8 horas após a eclosão e é notavelmente influenciada pela temperatura (Maldonado & Acosta-Matienzo, 1947). A penetração miracidiana, após o contato com o caramujo hospedeiro, é constituída de várias etapas.

O contato com o tegumento do molusco faz com que o terebratorium assuma a forma de ventosa, ocorrendo, quase que simultaneamente, a descarga do conteúdo das glândulas de adesão. O miracídio agita-se intensamente, com movimentos contráteis e rotatórios comandados pelas vibrações ciliares e pela ação da musculatura subepitelial. Neste tempo, o conteúdo da glândula é descarregado e as enzimas proteolíticas iniciam sua ação de digestão dos tecidos. A ação combinada dos intensos movimentos do miracídio e da ação enzimática constitui o elemento que permite a introdução do miracídio nos tecidos do molusco. O epitélio é ultrapassado e a larva se estabelece no tecido subcutâneo. O local de penetração pode ser representado por qualquer ponto das partes expostas do caramujo, sendo, porém, a massa cefalopodal, principalmente a base das antenas e o pé, os pontos preferidos (Coelho, 1957). O processo de penetração dura entre 10 e 15 minutos e, neste processo, cerca de apenas 30% dos miracídios são capazes de penetrar e evoluir em *B. glabrata*; 30% penetram mas não evoluem; e 40% são incapazes até mesmo de

penetrar no molusco (Chernin & Antolics, 1975). Ainda não se conhecem os receptores de membrana presentes nos miracídios e seus correspondentes na superfície dos moluscos susceptíveis, que poderiam ter participação no processo da penetração no caramujo. A biologia geral ensina que a passagem de um organismo para o interior de outro, através de uma membrana, é precedida pela ancoragem, favorecida pelas moléculas da adesão mais ou menos específicas. Sabe-se que entre as espécies susceptíveis de *Biomphalaria* existem cepas que se comportam como refratárias à infecção. Sem o conhecimento dos receptores fica-se sem saber se se trata de resistência (miracídios destruídos logo ao penetrar) ou de refratariedade.

A larva, após a perda das glândulas de adesão e penetração, continua a perder outras estruturas no processo de penetração. Dessa forma, o passo seguinte seria a perda do epitélio ciliado e a degeneração do terebratorium. Em seguida, dar-se-ia o desaparecimento da musculatura subepitelial e, por último, do sistema nervoso, que pode persistir por mais alguns dias. Com exceção do desaparecimento do sistema nervoso, todas as alterações citadas ocorrem num período de 48 horas. Assim sendo, o miracídio transforma-se, na verdade, em um saco com paredes cuticulares, contendo a geração das células germinativas ou reprodutivas.

No princípio, o miracídio apresenta movimentos amebóides, que diminuem, com o tempo, até a completa imobilidade da larva. As células germinativas, em número de 50 a 100, iniciam, então, um intenso processo de multiplicação, fazendo com que, após 72 horas, a larva agora chamada esporocisto primário, esporocisto mãe ou, simplesmente, esporocisto I dobre de tamanho. Na segunda semana da infecção, observa-se uma série de ramificações tubulares, no interior do esporocisto, que preenchem todos os espaços intercelulares do tecido conjuntivo. No interior destas ramificações, as células germinativas encontram-se em franca multiplicação. Em condições ideais de temperatura – entre 25ºC e 28°C – ocorre a formação dos esporocistos secundários, que se inicia a partir do 14° dia após a penetração do miracídio. Esta evolução pode ser significativamente retardada em temperaturas abaixo de 20°C. A cinética da evolução e as transformações morfológicas nesta fase do ciclo intracaramujo foram estudadas por vários autores (Faust & Hoffmann, 1934; Maldonado & Acosta-Matienzo, 1947; Oliver & Mao, 1949; Pan, 1965).

A formação do esporocisto secundário inicia-se com um aglomerado de células germinativas nas paredes do esporocisto primário, verificando-se uma formação de vacúolo mais acentuado na parte central da larva. Os aglomerados se reorganizam e dão origem a septos, ficando o esporocisto primário dividido em 150 a 200 camadas, sendo que cada septo ou camada pode ser considerado um esporocisto secundário, esporocisto filho ou esporocisto II. As paredes deste esporocisto apresentam uma dupla camada muscular logo abaixo da camada cuticular, com fibras musculares longitudinais e transversais. Esta musculatura, associada à formação de espinhos na parte mais externa da cutícula, terá papel fundamental na motilidade e na capacidade de migração intratecidual das larvas. A migração dos esporocistos secundários inicia-se em torno do 18º dia, após a saída da estrutura do esporocisto primário por um hipotético poro denominado de nascimento, ainda não identificado com precisão. A migração processa-se ativamente através dos tecidos do molusco. A migração dos esporocistos do local de penetração do miracídio até as glândulas digestivas, ou hepatopâncreas, onde a maioria se desenvolve, leva de dois a três dias. A localização final do esporocisto será nos espaços intertubulares da glândula digestiva, local com abundante riqueza nutritiva. O ovotéstis, ou glândula reprodutiva, poderá também abrigar os esporocistos migrantes, mas com freqüência menor, principalmente nas infecções com poucos miracídios.

Os esporocistos secundários começam, então, a sofrer profundas modificações anatômicas no seu conteúdo de células germinativas. A histogênese da formação cercariana foi estudada com mais detalhe por Pan (1965) e, posteriormente, por Lang (1983), Fournier & Theron (1985) e Kechermir & Combes (1988) (Figura 2).

Figura 2 – Esporocistos e cercárias em várias fases de desenvolvimento. Em A e B os esporocistos aparecem indiferenciados, compactamente arrumados e limitados por uma fina membrana externa. Em C já se pode ver uma cercária em diferenciação (seta) no meio de esporocistos; D mostra cercárias em várias etapas de diferenciação. H & E, x 200, exceto A, que tem aumento de x 100

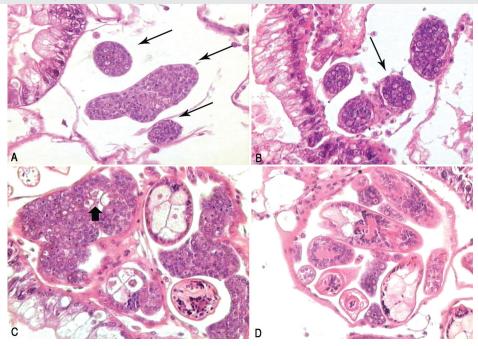
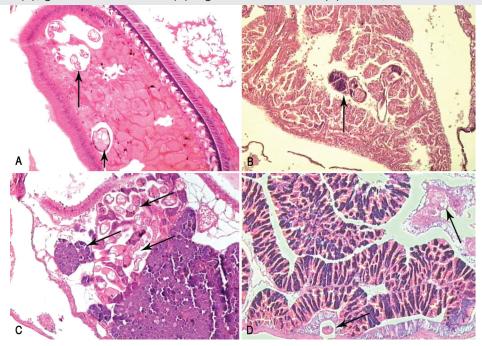



Figura 3 – Presença de cercárias imaturas em sítios pouco comuns do molusco, como saco radular (A), coração (B), glândula do albúmem (C) e glândula nidamental (D). H & E, x 100

Os esporocistos secundários, algum tempo depois de terem atingido o seu destino final, apresentam três áreas estruturais bem definidas. A primeira seria o chamado poro de nascimento. A segunda área apresentaria cercárias desenvolvidas ou em desenvolvimento. Por fim, a terceira apresentaria formas embrionárias, que poderão representar um outro tipo de reprodução. Esta última geração de células embrionárias originaria novos esporocistos, esporocistos terciários, que seriam então chamados esporocistos III (Jourdane et al., 1980). De acordo com estes autores, a existência dos esporocistos III forneceria a única explicação plausível para uma prolongada eliminação de cercárias pois, isto não ocorrendo, deveria haver uma exaustão no processo de formação cercariana nos esporocistos II. Nesta mesma linha de investigação, Lang demonstrou, em 1983, por transplante de esporocistos filhos, que seria possível o aparecimento de até seis novas gerações destes mesmos esporocistos, sucedendo-se umas às outras. Este autor admite que, no gênero *Schistosoma*, esta sucessão de gerações de esporocistos filhos pode ser teoricamente ilimitada. Posteriormente, Kechermir & Combes (1988) levantaram a hipótese de que o embrião que se desenvolve para esporocisto filho pode se diferenciar em cercárias ou em novas gerações de esporocisto, mas sempre originando-se de um único tipo de célula germinativa.

Pan (1965) verificou que a formação cercariana inicia-se com a disposição das células germinativas em uma mórula, em cujo centro encontra-se uma grande célula basófila, com um núcleo grande e vesicular. Com o crescimento da mórula, esta célula central se multiplica, constituindo o primórdio das glândulas de penetração. As células externas da mórula vão originar as duas camadas celulares da cercária, constituída de fibras longitudinais e circulares. Ao mesmo tempo, observa-se a formação de uma cutícula acelular, bem como das duas ventosas. A formação das cercárias, até sua emergência para o meio aquático, pode ocorrer dentro de um período de 27 a 30 dias, em condições ideais de temperatura (cerca de 28°C). Um único miracídio pode gerar cerca de 300 mil cercárias (Faust & Hoffman, 1934), sendo que cada miracídio já leva definido o sexo das cercárias que serão produzidas. Schwanbek et al. (1986) mostraram que existe uma regulação da evolução das formas parasitárias intramolusco em função da carga infectante dos miracídios. De fato, os autores demonstraram a existência de uma massa significativamente maior de tecido parasitário em caramujos infectados por dois miracídios, quando comparados àqueles infectados por um único miracídio. Entretanto, não se observou aumento significativo do tecido parasitário em caramujos infectados com cargas crescentes de miracídio (cinco, dez e vinte). Estes achados sugerem algum tipo de mecanismo regulador para se prevenir uma carga parasitária excessiva no hospedeiro.

O reconhecimento diferencial dos esporocístos primários e secundários em secções histológicas habitualmente deixa muitas dúvidas, a não ser que se acompanhe dia a dia a evolução da infecção para se detectar as primeiras formas de multiplicação. Numa infecção bem estabelecida, coleções de esporocistos geralmente apresentam pequenas modificações regressivas e variedade de disposição espacial, que dificultam a diferenciação entre os dois tipos de esporocistos nas colorações de rotina.

As cercárias apresentam a seguinte morfologia: comprimento total de aproximadamente 500 micrômetros, cauda bifurcada medindo 230 por 50 micrômetros e corpo cercariano com 190 por 70 micrômetros. Duas ventosas estão presentes. A ventosa oral apresenta as terminações das chamadas glândulas de penetração, quatro pares pré-acetabulares e quatro pares pós-acetabulares, e abertura que se conecta com o chamado intestino primitivo, primórdio do sistema digestivo. A ventosa ventral, ou acetábulo, é maior e possui musculatura mais desenvolvida. É principalmente através desta ventosa que a cercária fixa-se na pele do

hospedeiro no processo de penetração. Verifica-se um sistema excretor constituído de quatro pares de células flama. Como a cauda é uma estrutura que irá se perder rapidamente no processo de penetração, ela não apresenta órgãos definidos, servindo apenas para a movimentação da larva no meio líquido.

As cercárias mais diferenciadas no interior do molusco predominam na região cefalopodal, mas as várias etapas de diferenciação das cercárias ocorrem nos locais usualmente mais parasitados, como as glândulas digestivas, ovotéstis e túbulos renais. Todavia, elas podem ser encontradas em locais pouco comuns, como no coração, na glândula nidamental, nas glândulas do albúmem etc. (Figura 3, vista anteriormente). A emergência das cercárias ocorre com a saída dos organismos dos esporocistos filhos. A migração das cercárias faz-se tanto pelos espaços intercelulares, cheios de hemolinfa, como através do sistema venoso do caramujo. A passagem para o meio exterior processa-se pela formação de vesículas, no epitélio do manto, e de pseudobrânquia. Entretanto, algumas cercárias migram por muito tempo nos tecidos, antes da emergência (Pan, 1965; Duke, 1952). Gordon & Griffiths (1951) descreveram glândulas que só existem na cercária intracaramujo. Estas glândulas, acreditam os autores, atuam na emergência cercariana, sendo por eles denominadas glândulas de escape.

Desde Lutz (1919) sabe-se que esta emergência pode ser nitidamente influenciada por estímulos externos como luminosidade e temperatura. Valle et al. (1971) observaram que a emergência segue um ritmo circadiano. Estes autores, variando e alternando as variáveis temperatura e luminosidade, verificaram que a emergência cercariana é regida por fatores exógenos, cujos elementos sincronizadores são a luz e a temperatura, bastando, porém, a ação isolada de um destes fatores para a manutenção do ritmo circadiano. A luz parece exercer um papel mais marcante na manutenção do controle deste ritmo. Théron (1984) e Théron et al. (1997) estudaram duas cepas de *S. mansoni* em *B. glabrata* com comportamento cronobiológico distintos. Uma linhagem apresentava o pico de emergência cercariana em *B. glabrata* entre 10 e 11 horas da manhã, e a outra linhagem entre 15 e 16 horas. A linhagem com o pico de emergência cercariana precoce foi isolada de seres humanos e a de pico mais tardio, de roedores com infecção natural. Os autores sugerem um processo de seleção das linhagens em função do comportamento de contacto com água dos dois hospedeiros definitivos, fonte de isolamento das linhagens considerando que os roedores apresentavam atividades aquáticas crepusculares ou noturnas. Finalmente, Théron et al. (1997) infectaram *B. glabrata* com ambas as cepas e o padrão diferenciado da emergência cercariana foi mantido, provando-se, assim, que o fenômeno do comportamento cronobiológico diferenciado era uma característica intrínseca das duas cepas.

Os mecanismos de defesa dos hospedeiros intermediários, assim como os processos adaptativos do parasito para escaparem desta resposta de defesa e os aspectos genéticos da interação parasito/hospedeiro, serão abordados especificamente em outros capítulos deste livro. Entretanto, outros fatores podem influenciar o processo de desenvolvimento de *S. mansoni* no organismo de seus hospedeiros intermediários. Um aspecto ecológico/epidemiológico importante se relaciona com o comportamento de *S. mansoni* em seus hospedeiros intermediários submetidos a dessecação (anidrobiose). Os trabalhos de Barbosa (1960), Barbosa & Coelho (1953, 1955), Coelho & Chaia (1960) e Oliver, Barbosa & Coelho (1954) mostram o interessante fenômeno de parada temporária do desenvolvimento parasitário, quando o molusco, por desidratação, entra em anidrobiose (estivação). Nestas condições, os caramujos contraem-se no interior da concha, ficando reduzidos de 1/6 a 1/7 do seu volume normal, e segregam uma camada de muco que obstrui a abertura da concha, evitando maiores perdas de água. Ademais, seu

metabolismo cai acentuadamente. Este estado de anidrobiose só ocorre de forma lenta e progressiva na natureza. O parasito, na fase de esporocisto I, nesses caramujos, acompanha o metabolismo do hospedeiro, gastando o mínimo de energia vital. Quando a infecção está mais adiantada, na fase de esporocisto II (acima de 21 dias), ocorre cura parasitológica. Ao voltar às condições ideais de sobrevivência dos moluscos, isto é, com a chegada de água nos criadouros no período das chuvas, os caramujos se reidratam e retornam rapidamente a sua atividade biológica normal, ocorrendo também a retomada da evolução daqueles esporocistos na fase inicial da infecção.

A infecção por *S. mansoni* nos moluscos leva a uma série de problemas no hospedeiro intermediário. A localização do parasitismo na glândula reprodutiva (ovotéstis) ocasiona uma inibição da reprodução, a qual, na verdade, não resulta em verdadeira castração parasitária, pois aqueles que se autocuram voltam à ovoposição (Coelho, 1954). Esta extraordinária capacidade de regeneração é comum para vários tecidos do caramujo e é também compartilhada pelas formas evolutivas de *S. mansoni*. Após irradiação, tanto os parasitos como as estruturas do ovotéstis praticamente desaparecem, mas tudo volta ao estado inicial após semanas de suspensão das irradiações (Azevedo et al., 2004). A infecção no período pré-patente leva a uma grande mortandade dos moluscos. Após a emergência cercariana, muitos caramujos morrem também pela perda de hemolinfa no processo de saída das cercárias. Embora já se tenha observado a sobrevivência de caramujos infectados por mais de 150 dias em condições de laboratório, a média de sobrevida no laboratório foi de 39 dias (Barbosa et al., 1954). Na natureza, a sobrevida média de caramujos *B. glabrata* infectados não parece ser longa, apesar de um exemplar ter sobrevivido por um período de quatro meses (Barbosa, 1963).

O outro aspecto interessante é o ligado ao efeito da densidade populacional dos caramujos, afetando o parasito intramolusco. Por um lado, o trabalho de Wright (1960) mostrou que caramujos vivendo em populações densas apresentavam reprodução e crescimento reduzidos, bem como altas taxas de mortalidade. Por outro, Gazzinelli et al. (1970) e Coelho et al. (1975) mostraram que caramujos infectados, em populações densas, incorporavam menos ferro radioativo, enquanto Coelho et al. (1977) mostraram uma diminuição na captação de oxigênio dos moluscos, quando em altas densidades populacionais. Estes resultados, associados aos de Barbosa & Coelho (1955), mostraram que, quando ocorre estivação do caramujo (anidrobiose), o parasito também cessa sua evolução intramolusco, evidenciando assim um fino ajuste do metabolismo de *S. mansoni* ao do seu hospedeiro intermediário. Coles (1973) demonstrou também que caramujos de populações densas eliminam um número significativamente menor de cercárias, quando comparados a caramujos de populações com baixa densidade. Finalmente, Carlos & Coelho (1978) mostraram que caramujos infectados e mantidos em densidades populacionais altas, além de eliminarem menor quantidade de cercárias, apresentavam também taxas de infecção significativamente menores. Outro aspecto importante seria o fato de caramujos juvenis serem mais susceptíveis a infecção (Richards, 1977). Théron et al. (1998), utilizando juvenis (3 a 5 mm), subadultos (7 a 9 mm) e adultos (11 a 13 mm) de *B. glabrata* expostos a infecção por miracídios de *S. mansoni*, demonstraram a preferência destes para penetrarem nos caramujos de tamanho intermediário (7 a 9 mm). Os autores sugerem vários fatores para justificar esta preferência, e especulam sobre possíveis fatores de atração derivados do processo de amadurecimento sexual dos caramujos subadultos (hormônios), maior disponibilidade de matéria-prima para desenvolvimento dos esporocistos e uma menor mortalidade em relação aos juvenis. Acrescente-se ainda que o adulto teria menor expectativa de vida e seu sistema inato de defesa seria mais eficiente.

Finalmente, ao lado de fatores ligados ao mecanismo intrínseco de defesa do hospedeiro intermediário, o ciclo evolutivo de *S. mansoni* sofre marcada influência de fatores ambientais como temperatura e luminosidade naturais. Assim, a temperatura e luminosidade exercem influência na eclosão miracidiana, no encontro entre hospedeiro/parasito e na emergência cercariana. A temperatura ambiental é fundamental para o desenvolvimento das formas do parasito intramolusco e o comportamento de contacto com água, principalmente do homem. Assim, a transmissão ocorre nos períodos de maior luminosidade e com as temperaturas mais elevadas. Estes fatores explicam, em parte, a razão de a esquistossomose mansoni ser transmitida nas regiões tropicais do planeta.

PERSPECTIVAS

Hoje em dia os estudos sobre a evolução de *Schistosoma mansoni* em hospedeiros intermediários tem um enfoque mais centrado nos aspectos ligados ao mecanismo de resistência/susceptibilidade na interação parasito/hospedeiro.

A morfogênese no processo de desenvolvimento do parasito em seus hospedeiros intermediários pode e deve ser estudada com maior profundidade, ante o uso dos modernos equipamentos (microscópio de varredura, transmissão e confocal) e metodologias recentes (imunoistoquímica, biologia molecular com ênfase na expressão gênica da morfogênese etc.).

REFERÊNCIAS

ATEMA, J. Distribution of chemical stimuli. In: ATEMA, J. et al. (Eds.) *Sensory Biology of Aquatic Animals*. New York: Springer-Verlag, 1988.

AZEVEDO, C. M.; BORGES, C. C. & ANDRADE, Z. A. Behavior of *Schistosoma mansoni*-induced histopathological lesions in *Biomphalaria glabrata* submitted to ionizing radiation. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 37 (3): 218-221, 2004.

BARBOSA, F. S. Alguns aspectos das relações hospedeiro-parasito entre fases larvárias do trematódeo *Schistosoma mansoni* e o molusco *Astralorbis glabratus*. *Boletim da Fundação Gonçalo Muniz*, 15: 1-44, 1960.

BARBOSA, F. S. & COELHO, M. V. Ação da dessecação sobre as fases larvárias intracaramujo de *Schistosoma mansoni* em *Astralorbis glabratus*. *Publicações Avulsas do Instituto Aggeu Magalhães*, 11: 159-162, 1953.

BARBOSA, F. S. & COELHO, M. V. Comportamentos das formas larvárias de *Schistosoma mansoni* em *Astralorbis glabratus (Mollusca, Planorbidae*) sujeitos a estivação. *Publicações Avulsas do Instituto Aggeu Magalhães*, 4: 51-60, 1955

BARBOSA, F. S.; COELHO, M. V. & DOBBIN, J. E. Qualidade de vetor dos hospedeiros de *Schistosoma mansoni* no Nordeste do Brasil. II Duração da infestação e eliminação de cercárias em *Astralorbis glabratus*. *Publicações Avulsas do Instituto Aggeu Magalhães*, 3: 19-92, 1954.

BARBOSA, F. S. Survival in the field of *Astralorbis glabratus* infected with *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology*, 49: 149, 1963.

CARLOS, M. A. & COELHOS, P. M. Z. The crowding effect in *Biomphalaria glabrata* affecting the intramolusca *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology*, 64: 1.137-1.138, 1979.

CHAIA, G. Técnica para concentração de miracídios. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 8: 355-357, 1956.

CHERNIN, E. Behavioral responses of miracidia of *Schistosoma mansoni* and other trematodes to susbstances emitted by snaill. *Journal of Parasitology*, 56: 287-296, 1970.

CHERNIN, E. Penetrative activity of *Schistosoma mansoni* miracidia stimulated by exposure to *snail-conditioned* water. *Journal of Parasitology*, 58: 209-212, 1972.

CHERNIN, E. Some host-finding attributes of *Schistosoma mansoni* miracidia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 23: 320, 1974.

CHERNIN, E. & ANTOLICS, V. M. Penetrative capacity of *Schistosoma mansoni* miracidia. *Journal of Parasitology*, 63: 560-561, 1975.

COELHO, M. V. Ação das formas larvárias do *Schistosoma mansoni* sobre a reprodução de *Australorbis glabratus*. *Publicações Avulsas do Instituto Aggeu Magalhães*, 3: 39-54, 1954.

COELHO, M. V. Aspectos do desenvolvimento de formas larvárias de *Schistosoma mansoni* em *Australorbis nigricans*. *Revista Brasileira de Biologia*, 17: 325-337, 1957.

COELHO, M. V. & CHAIA, G. Equilíbrio hospedeiro-parasita em *Australorbis glabratus* de Belo Horizonte, infectados por *Schistosoma mansoni* e sujeitos à estivação em laboratório. *Revista Brasileira de Malacologia e Doenças Tropicais*, 12: 351-354, 1960.

COELHO, P. M. Z. et al. Aspects of the crowding effect in *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) evaluated by 59Fe uptake. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 17: 129-134, 1975.

COELHO, P. M. Z. et al. Crowding effect related to aquarium water components. *Journal of Parasitology*, 63: 284-284, 1977.

COLES, G. C. The effect of diet and crowding on the shedding of *Schistosoma mansoni* cercariae by *Biomphalaria glabrata*. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 67: 419-424, 1973.

DISSOUS, C.; DISSOUS, C. & CAPRON, A. Stimulation of *Schistosoma mansoni* miracidia by a 80 kDa glycoprotein from *Biomphalaria glabrata*. *Molecular Biochemistry Parasitology*, 21: 203, 1986.

DUKE, B. O. L. The route of emergence of the cercariae of *Schistosoma mansoni* from *Australorbis glabratus*. *Journal of Helminthology*, 55: 133-146, 1952.

FAUST, E. C. & HOFFMANN, W. A. Studies on *Schistosomaisis mansoni* in Puerto Rico. I The extramammalian phases on life-cycle. *Puerto Rico Journal of Public Health and Tropical Medicine*, 10: 1-47, 1934.

FOURNIER, A. & THERON, A. Sectorisation morpho-anatomique et functionnelle du sporocyst-fils de *Schistosoma mansoni*. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 71: 325-336, 1985.

GAZZINELLI, G.; RAMALHO-PINTO, F. J. & PELLEGRINO, J. Uptake of 59 Fe as a tool for study of the crowding effect in *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 19: 1.034-1.037, 1970.

GORDON, R. M. & GRIFFITHS, R. B. Observations on the means by which the cercariae of *Schistosoma mansoni* penetrate mammalian skin, together with an account of certain morphological changes observed in the newly penetrated larvae. *Annals of Tropical Medicine Parasitology,* 45(3-4): 227-243, 1951.

HABERL, B. & HAAS, W. Miracidium of *Schistosoma mansoni*: a macromolecular glycoconjugate as signal for the behaviour after contact with the snail host. *Comparative Biochemistry Physiology A*, 101: 329, 1992.

HABERL, B. et al. *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium*: miracidial host-finding behaviour is stimulated by macromolecules. *International Journal for Parasitology*, 25: 551, 1995.

JOURDANE, J.; THERON, A. & COMBES, C. Demonstration of several sporocysts generations as a normal pattern of reproduction of *Schistosoma mansoni*. *Acta Tropica*, 37(2): 177-182, 1980.

KALBE, M.; HABERL, B. & HAAS, W. *Schistosoma mansoni* Miracidial host-finding: species specifity of an Egyptian strain. *Parasitology Research*, 82: 8, 1996.

KECHEMIR, N. & COMBES, C. Up to what point are cercariogenesis and sporocystogenesis reversible in schistosomes? *Journal of Helminthology*, 62 (3): 261-264, 1988.

LANG, M. *Analyse des Entewicklungsmuster der Intramosluskaren Stadien von* Schistosoma mansoni. Thesis Wurzburg: University of Wurzburg, 1983.

LUTZ, A. *Schistosoma mansoni* e a Schistosomatose segundo observações feitas no Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 11: 121-155, 1919.

MACINNIS, A. J. How parasites find hosts: some thoughts on the inception of host-parasite integration. In: KENNEDY, C. R. (Ed.) *Ecological Aspects of Parasitology*. Amsterdam: NorthHolland Publishing Company, 1976.

MALDONADO, J. F. & ACOSTA-MATIENZO, J. Evolution del *Schistosoma mansoni* dentro de su hosped intermediário, el caracol *Australorbis glabratus*. *Puerto Rico Journal of Public Health and Tropical Medicine*, 22: 374-404, 1947.

OLIVER, L. & MAO, C. P. The early larval stages of *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907) in the snail host, *Australorbis glabratus* (Say, 1818). *Journal of Parasitology*, 35: 267-275, 1949.

OLIVER, L.; BARBOSA, F. S. E. & COELHO, M. V. The influence of infection with *Schistosoma mansoni* on survival of *Australorbis glabratus*. *Publicações Avulsas do Instituto Aggeu Magalhães*, 3: 63-71, 1954.

OTTAVIANI, E.; BOLOGNANI FANTIN, A. M. & BOLOGNANI, L. Muramic acid as a glycoconjugate component in Mollusca Gastropoda. *Comparative Biochemistry Physiology*, 96B: 627, 1990.

OTTOLINA, C. El miracidio del *Schistosoma mansoni*. Anatomía, Citología, Fisiología. *Revista de Sanidad y Assistencia Sociale*, 22 (1-4): 1-411, 1957.

PAN, C. Sudies on the host-parasite relationship between *Schistosoma mansoni* and the snail *Australorbis glabratus*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 14: 931-976, 1965.

PIMENTEL, F. et al. Comportamento elementar do caramujo *Biomphalaria glabrata*. I. Disposição especial da concha. *Revista Brasileira de Pesquisas Médicas e Biológicas*, 9: 117-122, 1976a.

PIMENTEL, F. et al. Comportamento elementar do caramujo *Biomphalaria glabrata*. II. Localização e tamanho da massa cefalopodal exposta. *Revista Brasileira de Pesquisas Médicas e Biológicas*, 9: 123-127, 1976b.

PIMENTEL, F. et al. Behavior of *Biomphalaria glabrata* under different lightning conditions. *Canadian Journal of Zoology*, 62: 2.328-2.334, 1984.

RICHARDS, C. S. *Schistosoma mansoni*: susceptibility reversal with age in the snail host *Biomphalaria glabrata*. *Experimental Parasitology*, 42: 165-168, 1977.

SALADIN, K. S. Behavioral parasitology and perspectives on miracidial host-finding. *Zeitschrift füer Parasitenkunde*, 60: 197, 1979.

SCHWANBEK, A.; BECKER, W. & RUPPRECHT, H. Quantification of parasite development in the host-parasite system *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni*. *Zeitscrift fÜr Parasitenkunde*, 72: 365-373, 1986.

STANDEN, O. D. Experimental *Schistosomiasis*: maintenance of *Schistosoma mansoni* in the laboratory, with somes notes on experimental infections with *Schistosoma haematobium*. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 43: 268-283, 1949.

STANDEN, O. D. The effect of temperature, light, and salinity upon the hatching of the ova of *Schistosoma mansoni*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 45: 225-241, 1951.

THÉRON, A. Early and late shedding patterns of *Schistosoma mansoni* cercariae: ecological significance in transmission to human and murine host. *Journal Parasitology*, 70: 652-655, 1984.

THÉRON, A.; MONHAID, C. & MONÉ, H. *Schistosoma mansoni*: cercarial shedding patterns from a mixed infection of *Biomphlaria glabrata* with two (early and late) chronobiological variants. *Parasitology Research*, 83: 356-358, 1997.

THÉRON, A.; ROGNAN, A. & PAGES, J. R. Host choice by larval parasites: a study of *Biomphalaria glabrata* snails and *Schistosoma mansoni* miracidia related to host size. *Parasitology Research*, 84: 727-732, 1998.

VALLE, C.; PELLEGRINO, J. & ALVARENGA, N. Ritmo circadiano de emergência de cercárias (*Schistosoma mansoni-Biomphalaria glabrata*). *Revista Brasileira de Biologia*, 31: 53-63, 1971.

WILLIAMS, P. & COELHO, P. M. Z. The attraction of snail to betalights. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 67: 616-617, 1975.

WILSON, E. O. Chemical communication within animal species. In: SANDHEIMER, E. (Ed.) *Chemical Ecology*. New York: Acadcemic Press, 1970.

WRIGHT, C. A. The crowding phenomenon in laboratory colonies of fresh-water snails. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 54: 224-232, 1960.

5 Bioquímica de *Schistosoma mansoni*

Franklin David Rumjanek
Iramaya Rodrigues Caldas
Giovanni Gazzinelli

Região delgada da junção cauda-corpo da cercária do *Schistosoma mansoni* contendo a vesícula excretora. A eliminação da cauda desencadeia processos morfológicos e moleculares que levam à transformação cercária-esquistossômulo.
Fonte: Howells et al. (1974).

Este capítulo, sobre aspectos da bioquímica de *Schistosoma mansoni*, encontra-se dividido em três partes. A primeira refere-se ao seu metabolismo geral, incluindo biomoléculas de *S. mansoni* e metabolismo de glucídeos, lipídeos, proteínas e glicoconjugados. A segunda refere-se à estrutura molecular da espécie, especificidades e funções das proteases relevantes para a sua manutenção, incluindo aspectos sobre a liberação do miracídio do ovo, penetração da cercária no hospedeiro, sua transformação em esquistossômulo e seu escape da ação destrutiva do hospedeiro e, finalmente, informações sobre as proteases envolvidas na digestão do verme adulto. A terceira parte trata da bioquímica da reprodução do helminto: fenômenos relacionados com o amadurecimento sexual, mediadores químicos, receptores e vias de transdução de sinais do parasito adulto. A parte referente à biologia molecular será tratada no capítulo 7.

METABOLISMO

Até recentemente, grande parte da informação relativa ao metabolismo de esquistossomos era obtida a partir de abordagens baseadas principalmente na bioquímica mais tradicional, isto é, aquela que envolvia experimentos funcionais. Esses experimentos visavam medir diretamente em homogeneizados, ou em frações obtidas por centrifugação diferencial, as atividades das enzimas que participam das várias vias e ciclos metabólicos, assim como a purificação de produtos relevantes. Embora tenha sido possível reconstruir parcialmente um perfil bioquímico dos esquistossomos, muitas questões fundamentais ainda permanecem sem respostas conclusivas. Por exemplo, o parasito é capaz de realizar metabolismo aeróbio em todos os seus estádios? Em que circunstâncias? Quais metabólitos são importantes na regulação das vias do próprio microrganismo? Por que *S. mansoni* não consegue realizar síntese 'de novo' de ácidos graxos e de esteróis? Quais produtos do hospedeiro são essenciais para os esquistossomos? Como é controlado bioquimicamente o desenvolvimento e o amadurecimento sexual dos parasitos? E assim por diante.

As principais dificuldades dos experimentos bioquímicos decorrem da complexidade do ciclo de vida do parasito e de sua manutenção no laboratório. Ademais, até hoje não foi possível estabelecer culturas de linhagens de células de *S. mansoni*. Tal situação necessariamente restringe uma pesquisa mais canônica, em virtude da escassez de material (massa de parasitos), o que por seu turno prejudica a caracterização fina de enzimas ou produtos de interesse. Em conseqüência, à diferença de nematóides de vida livre como *C. elegans*, tem-se ainda um quadro incompleto da bioquímica de *S. mansoni*.

No entanto, avanços técnicos na área de Biologia Molecular viabilizaram a análise sistemática do genoma do parasito. Resultados recentes, obtidos por vários consórcios de laboratórios realizando a seqüência do genoma de *S. mansoni*, produziram um banco de dados que atualmente cobre aproximadamente 92% do transcriptoma de *S. mansoni* (Verjovski-Almeida et al., 2003). Esse banco passou a constituir um importante acessório e permitiu a adoção de uma nova estratégia na qual o genoma fornece dados valiosos que complementam a pesquisa da bioquímica de *S. mansoni*. Além deste projeto, a Rede Genoma de Minas Gerais vem trabalhando na geração de aproximadamente 70 mil etiquetas de seqüências expressas (ESTs), que serão importantes na montagem do genoma do parasito e na elucidação dos genes existentes (Oliveira, Rodrigues & Romanha, 2004).

Esse capítulo já se beneficia dessa ferramenta e os dados apresentados adiante procurarão combinar evidências compiladas a partir dessas duas fontes de informação.

É preciso ressaltar também que algumas vias metabólicas em *S. mansoni*, como por exemplo, aquelas envolvendo os aminoácidos foram muito pouco investigadas nesse parasito e, portanto, juntamente com algumas outras vias minoritárias, serão brevemente mencionadas ao final do capítulo.

Os vermes adultos de *S. mansoni* vivem durante muitos anos nas veias do mesentério porta-hepático do hospedeiro definitivo. Este é o estádio mais longevo do parasito, o que do ponto de vista metabólico leva a ponderações sobre a obrigatoriedade de uma estreita relação parasito-hospedeiro. Em outras palavras, a viabilidade dos vermes adultos em seu hospedeiro estabelece uma grande dependência daqueles no que tange ao aporte de nutrientes e ao modo pelos quais estes são utilizados metabolicamente.

Entretanto, este não é o caso das formas de vida livre de *S. mansoni*, isto é, as cercárias e os miracídeos, que, vivendo mesmo que brevemente na água doce, necessariamente exibem auto-suficiência

no contexto de obtenção de energia através das reações metabólicas. Como será visto, a diferença entre os hábitats nos estádios de *S. mansoni* pode ser um fator evolutivamente determinante no condicionamento metabólico dos organismos.

Considerando primeiramente o meio ambiente no qual vivem os vermes adultos, as seguintes observações são pertinentes. Por um lado, a veia porta drena o sangue a partir do estômago, baço, pâncreas e intestino, sendo, portanto, rica em nutrientes. No entanto, o sangue já se encontra parcialmente desoxigenado e somente contribui com cerca de 50% a 55% de oxigênio para o suprimento hepático. Assim, os parasitos encontram um ambiente nutritivo rico, porém relativamente pobre em oxigênio.

Durante a evolução, essa situação pode ter condicionado o metabolismo energético dos vermes adultos e determinado, por seleção natural, um catabolismo com características predominantemente anaeróbicas. De fato, esse estádio do parasito apresenta glicólise anaeróbica com excreção substancial de ácido lático diretamente na circulação sangüínea. Essa excreção é tão intensa que pode ser facilmente observada *in vitro*. Em poucos minutos, os vermes adultos incubados em meio contendo vermelho de fenol produzem a viragem do indicador na vizinhança imediata da membrana, revelando prontamente um halo amarelo ao redor dos organismos.

Em se tratando de parasitos com alta demanda energética, principalmente as fêmeas maduras, que produzem cerca de 300 ovos por dia, a glicólise anaeróbica exige um aporte de glicose compatível. Em outras palavras, nesse contexto é preciso considerar-se também o transporte de glicose através das membranas do tegumento dos vermes adultos.

Transporte de Glicose

De uma forma geral, nos vermes adultos, o transporte de moléculas pequenas como monossacarídeos e aminoácidos ocorre principalmente através das membranas do tegumento. A glicose e outros componentes do sangue podem desempenhar papéis acessórios no estímulo da formação da dupla camada lipídica da superfície do tegumento que imediatamente sucede à transformação das cercárias (Skelly & Shoemaker, 2000).

No caso da glicose, há um intenso transporte que pode atingir taxas equivalentes a 15% a 25% do peso seco dos vermes (Camacho & Agnew, 1995). Em valores absolutos, experimentos cuidadosos, utilizando vermes vivos, em sistema com fluxo constante de meio de cultura que se aproxima da situação real, revelaram um valor de taxa de incorporação de glicose por vermes adultos de 0,656 pmol/mg de proteína/min, com base num traçador radioativo consistindo de ^{3}H-2-desoxiglicose.

Curiosamente, esse valor representa cerca da metade da incorporação de glicose daquela observada em *S. haematobium* e *S. bovis* (Camacho & Agnew, 1995). Para fins comparativos, um cálculo aproximado baseado no valor acima, levando-se em conta um volume de 0,0628 mm^3 de uma fêmea madura de *S. mansoni* e um volume globular médio de hemácias de 90 fL (femtolitros), revela que a incorporação de glicose por *S. mansoni* é cerca de duas mil vezes maior do que aquela das hemácias. Essa elevada taxa de incorporação de glicose equivale àquela de um tumor de crescimento rápido.

Apesar de os vermes adultos possuírem um tubo digestivo, a entrada de pequenas moléculas, como monossacarídeos e aminoácidos, se dá por via transtegumentar. Não há, entretanto, um transporte ativo

de glicose pelos esquistossomos. O transporte da glicose através da dupla camada lipídica dos vermes adultos ocorre por difusão facilitada mediado por transportadores de glicose (Cornford et al., 1988). Os transportadores de glicose bem caracterizados, até o momento, em *S. mansoni* e *S. japonicum,* são o SGTP1 e SGTP4 (*Schistosome glicose transporter* 1 e 4) (Skelly & Shoemaker, 1996; Skelly et al., 1994; Jiang et al., 1996). SGTP1 localiza-se na membrana basal do tegumento e nas suas pregas, ao passo que SGTP4 foi encontrado exclusivamente na face externa do tegumento e nas vesículas membranosas no interior do citoplasma das células sinciciais do tegumento. Os transportadores de glicose exibem estereoespecificidade para D-glicose, possuem especificidade relativamente baixa para hexoses e independem de sódio (Skelly et al., 1994).

Resultados anteriores à caracterização molecular dos transportadores de glicose de *S. mansoni* mostraram que existem diferenças, entre vermes machos e fêmeas, nas taxas de transporte de glicose (Cornford et al., 1988). Experimentos *in vitro* mostraram que machos acasalados exibiram uma taxa de transporte significativamente mais baixa do que as fêmeas acasaladas. Isso pode estar relacionado à maior demanda energética das fêmeas adultas. No entanto, verificou-se que há diferenças também entre as constantes de afinidade dos transportadores, o que sugere a existência de distintos sistemas de transporte. É provável, entretanto, que as distintas taxas de transporte sejam conseqüências apenas do número e da distribuição das moléculas transportadoras.

Como o verme macho possui uma área superficial maior que a fêmea, além de encobri-la parcialmente no canal ginecóforo, já se sugeriu que a fêmea recebe a glicose e outras pequenas moléculas indiretamente, isto é, através do macho (Cornford et al., 1988). Essa sugestão partiu de experimentos nos quais os vermes carregados com glicose radioativa eram capazes de mediar o transporte vetorial no sentido macho → fêmea. Contudo, para comprovar esse modelo, há necessidade de mais evidências, uma vez que já foi demonstrado que as fêmeas isoladas são capazes de absorver glicose e aminoácidos eficientemente (para mais detalhes, ver a parte referente ao desenvolvimento sexual). Ademais, não há dados sobre possíveis diferenças estruturais entre transportadores de glicose de machos e fêmeas já caracterizados. Interessantemente, a glicose parece modular também a incorporação de outros nutrientes, tais como adenina, adenosina, arginina, colina histidina e lisina (Cornford & Fitzpatrick, 1992).

Curiosamente, o transporte de glicose em *S. mansoni* parece independer de insulina. Experimentos demonstraram que concentrações relativamente altas de insulina não afetaram a taxa de incorporação de ^{14}C 2-desoxiglicose. O hormônio marcado com ^{125}I tampouco se ligou ao parasito de modo específico (Clemens & Basch, 1989). Assim, é possível que o transporte de glicose através do tegumento constitua um processo predominantemente limitado pela disponibilidade do soluto glicídico e pela saturação dos transportadores. Apesar de o transporte de glicose por *S. mansoni* independer de um hormônio classicamente associado à incorporação de glicose e de aminoácidos, é possível que outros mediadores tenham um papel fisiológico nesse processo. Por exemplo, experimentos mostraram que em *S. haematobium* e *S. bovis* a acetilcolina aumentou em cerca de 60% o transporte de glicose atuando em receptores presentes na superfície dos parasitos (Camacho & Agnew, 1995). Receptores nicotínicos para a acetilcolina foram recentemente caracterizados em *S. haematobium* (Bentley et al., 2004; Jones et al., 2002). No entanto, não se sabe se esse sistema colinérgico é fisiologicamente importante para *S. mansoni*, já que não houve incremento na taxa de transporte de glicose em resposta a acetilcolina.

Transporte e Metabolismo de Aminoácidos

Aminoácidos são também transportados intensamente através das membranas tegumentares. O aminoácido tirosina, por exemplo, um dos principais constituintes das proteínas da casca do ovo, é intensamente transportado através do tegumento do verme macho. Mostrou-se que a taxa de transporte aumenta quando o verme macho se encontra acasalado, o que indica que existe um transporte de aminoácido do macho para a fêmea, como sugerido no caso da glicose (Haseeb, 1998).

Embora existam publicações sobre a incorporação de aminoácidos em *S. mansoni* (Cornford & Oldendorf, 1979), ainda não há maiores detalhes sobre a natureza dos transportadores, exceto a descrição do homólogo SPRM1, descrito por Mastroberardino et al. (1998) e por Pfeiffer et al. (1998).

Na literatura médica, não há descrições sobre o destino metabólico dos aminoácidos. Algumas reações de transaminação serão discutidas mais adiante, quando tratarmos do ciclo de Krebs. Na ausência de dados sobre as vias individuais de catabolismo dos aminoácidos, torna-se difícil avaliar, do ponto de vista de excreção do excesso de nitrogênio, se os esquistossomos são amonotélicos, ureotélicos ou uricotélicos. Admitindo-se que os processos de desaminação em *S. mansoni* gerem produtos excretados via ciclo da uréia, cabe a pergunta sobre a existência das enzimas envolvidas nesse processo. A primeira reação relevante do ciclo da uréia é aquela catalisada pela carbamoil fosfato sintetase, que, embora rigorosamente não faça parte do ciclo da uréia, é essencial na condensação e ativação do NH_4^+ e HCO_3^- para formar carbamoil fosfato, consistindo assim em reação comprometida do ciclo que ocorre nas mitocôndrias. A atividade de carbamoil fosfato sintetase já foi detectada em *S. mansoni* (Hill et al., 1981) e ESTs (*expressed sequence tag* = etiqueta de seqüência expressa) do gene dessa enzima estão amplamente representados no banco de dados do transcriptoma. Sobre as outras enzimas, ornitina-transcarbamilase, argininossuccinato-sintetase, argininossuccinase e arginase, não há dados funcionais na literatura. No banco de ESTs, a enzima arginosuccinase não está representada. Assim, não é possível concluir se o ciclo da uréia é operacional, em *S. mansoni*.

Glicólise

A via glicolítica consiste na degradação seqüencial da glicose, gerando como produto final o ácido lático. As reações dessa via são catalisadas pelas enzimas hexoquinase, fosfoglicose-isomerase, fosfofrutoquinase, aldolase triose-fosfato-isomerase, gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase, fosfoglicerato-quinase, fosfoglicerato-mutase, enolase e piruvato-quinase.

Sendo *S. mansoni* um fermentador homolático, a última etapa dessa via consiste na conversão do piruvato em ácido lático pela lactato-desidrogenase. Nessa última reação, NAD^+ é regenerado, preservando dessa maneira o poder oxidativo da coenzima que é utilizada ao longo das reações da glicólise.

As enzimas estão representadas no banco de ESTs ou no transcriptoma de *S. mansoni* (Verjovski-Almeida, et al., 2003). Dentre essas enzimas, algumas foram purificadas ou clonadas e expressas e as suas estruturas, bem como as propriedades cinéticas, foram analisadas. Cumulativamente, esses resultados indicam que a glicólise nesse parasito ocorre de forma canônica.

Interessantemente, no transcriptoma de *S. mansoni* há também várias ESTs anotadas para a enzima álcool-desidrogenase. Esta enzima, juntamente com a coenzima NADH, reduz o acetaldeído, formando etanol de acordo com as seguintes reações: piruvato → acetaldeído → etanol. Por seu turno, o acetaldeído

é formado pela descarboxilação do ácido pirúvico pela enzima piruvato-descarboxilase. ESTs homólogos a piruvato-descarboxilase também estão abundantemente presentes no transcriptoma de *S. mansoni*, de modo que, potencialmente, o parasito poderia também produzir NAD^+ durante a glicólise, mediante redução a etanol. Nesse contexto, é plausível também a hipótese de que, no caso de ingestão de álcool pelos indivíduos infectados por *S. mansoni*, a enzima álcool-desidrogenase do parasito possa atuar convertendo o etanol a acetaldeído. Como a reação etanol ↔ acetaldeído é plenamente reversível, a formação de acetaldeído dependeria somente da constante de equilíbrio da reação resultante das massas dos reagentes. Entretanto, na literatura sobre *S. mansoni* não há dados funcionais e cinéticos dessa enzima.

Apesar de na glicólise haver relativamente pouca eficiência na produção de moléculas de ATP (2 ATPs são formados por mol de glicose, em comparação com o metabolismo aeróbico, pelo qual são produzidos 38 moléculas de ATP/mol de glicose), do ponto de vista de aporte energético os parasitos, com a sua demanda constante de ATP, principalmente para o processo de ovogênese, estão perfeitamente adaptados à anaerobiose. Isso ocorre porque na glicólise a produção de ATP é cerca de cem vezes mais rápida do que pela oxidação fosforilativa. Esta é uma situação homóloga àquela do músculo em exercício, cujo ATP é regenerado quase que inteiramente por meio de glicólise. Assim, desde que haja uma quantidade suficiente de glicose na circulação sangüínea, a glicólise de *S. mansoni* representa para os parasitos uma estratégia evolutiva muito bem-sucedida. É oportuno mencionar que, quando as cercárias transformam-se em esquistossômulos, ocorre uma transição rápida do metabolismo energético (ver transformação da cercária). Enquanto que as cercárias lançam mão de metabolismo aeróbico (que parece ser característico das formas de vida livre de *S. mansoni*), os esquistossômulos são predominantemente anaeróbicos. Essa transição parece ocorrer principalmente em função da incubação dos esquistossômulos na presença de glicose (Horemans, Tielens & Van Den Bergh, 1992). Ademais, as duas vias, aeróbica e anaeróbica, parecem estar segregadas anatomicamente nas cercárias. A via da glicólise parece estar restrita aos corpos das cercárias (que vão originar os esquistossômulos após a transformação), enquanto as enzimas do ciclo do ácido tricarboxílico se localizariam nas caudas. Desse modo, a ativação da glicólise, que depende da presença de glicose (Horemans, Tielens & Van Den Bergh, 1992), seria deflagrada somente por ocasião da penetração no hospedeiro (ver também transformação cercária-esquistossômulo). É possível então que, rigorosamente, não haja uma transição metabólica, mas simplesmente a ativação da glicólise nos esquistossômulos pela glicose do meio interno do hospedeiro. Nessa hipótese, a cercária poderia ser comparada a um foguete de dois estágios, no qual a cauda, com o seu metabolismo aeróbico, forneceria a energia para a natação na água doce e o corpo corresponderia a uma ogiva contendo as enzimas da via glicolítica. Esse modelo já havia sido proposto anteriormente (Rumjanek, 1987).

Com relação ao destino do lactato gerado pelos vermes adultos, sabe-se, conforme antes mencionado, que há uma intensa secreção do composto. Se de fato o lactato for o produto final da via anaeróbica, pode ser então considerado um produto de excreção (ver discussão mais adiante).

No hospedeiro, o lactato pode ser aerobicamente reconvertido na glicose, por intermédio do ciclo de Cori. Quando a gliconeogênese ocorre na mesma célula ou no mesmo órgão, pelo ciclo de Cori, passa a constituir um ciclo fútil, isto é, sem ganho ou perda líquida de energia. No hospedeiro, entretanto, o ciclo de Cori possui vantagens metabólicas, no sentido de que o lactato produzido no músculo é transportado para o fígado, onde então regenera o piruvato e eventualmente o glicogênio. No entanto, nos vermes adultos de *S. mansoni*, não há, *a priori*, vantagens evolutivas nesse ciclo. De fato, com base em

experimentos que utilizaram substratos para várias enzimas da gliconeogênese marcadas radioativamente, bem como bicarbonato de sódio (^{14}C-$NaHCO_3$), a gliconeogênese não foi detectada nesse parasito (Tielens et al., 1991a, 1991b). Não obstante, as enzimas que participam da glicoeneogênese, isto é, glicose-6-fosfatase, frutose-1,6 bisfosfatase, fosfoenol piruvato-carboxiquinase e piruvato-carboxilase, estavam todas elas presentes nos extratos totais de vermes adultos de *S. mansoni*. Tais resultados chamam a atenção para o fato de que, ao se investigar o metabolismo de *S. mansoni*, não basta somente se detectar as atividades enzimáticas e daí postular a existência de ciclos e vias metabólicas. É importante estabelecer também se as reações envolvendo as várias enzimas e substratos estão interligados de maneira funcional, passíveis de regulação. Nesse contexto, experimentos de *northern blot* com mRNA extraído de vários estádios de *S. mansoni* revelaram em vermes adultos a presença de vários transcritos correspondendo a enzimas do ciclo do ácido tricarboxílico e da subunidade 1 da citocromo oxidase (Skelly et al., 1993). A conclusão dos autores foi que os níveis de expressão relativamente altos desses transcritos sugeriam que os vermes adultos retinham a capacidade de produzir energia através de metabolismo aeróbico. No entanto, como se viu no caso da gliconeogênese, a simples presença das enzimas não significa que, obrigatoriamente, elas façam parte de um ciclo coerente. Mais adiante esses pormenores serão discutidos em maior detalhe, ao abordarmos o metabolismo aeróbico de *S. mansoni*.

As enzimas da glicólise de *S. mansoni* melhor caracterizadas permitem algumas comparações relevantes. Dentre as enzimas da via glicolítica de *S. mansoni*, somente há dados estruturais e/ou cinéticos para a hexoquinase, fosfoglicose-isomerase, fosfofrutoquinase, fosfoglicerato-quinase, triose-fosfato-isomerase, gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase e frutose-1,6-bisfosfato aldolase.

A hexoquinase é a primeira reação da via glicolítica e representa aquela na qual ocorre o consumo da primeira molécula de ATP, que atua como o substrato na fosforilação da glicose na posição 6. Em geral a hexoquinase é inibida por seu próprio produto, a glicose-6-fosfato.

As propriedades cinéticas da hexoquinase de *S. mansoni* já foram estudadas tanto na enzima parcialmente purificada a partir de homogenatos totais de vermes adultos (Tielens et al., 1994), como na proteína recombinante expressa em *E. coli* (Armstrong, Wilson & Shoemaker, 1996). A enzima apresenta uma massa molecular de 52 kDa, semelhante, portanto, à maioria das hexoquinases de mamíferos. Observou-se que o K_m calculado para ATP e para glicose foi diferente quando as duas preparações da enzima foram comparadas. Por exemplo, o K_m para ATP foi mais baixo na enzima recombinante do que na enzima parcialmente purificada, ao passo que o K_m para glicose foi mais alto na recombinante. Essas diferenças provavelmente refletem modificações pós-traducionais, tais como as glicosilações, que ocorrem nas proteínas nativas e não nas recombinantes. Com base nos dados cinéticos pode-se concluir que a hexoquinase de *S. mansoni* é semelhante à enzima de mamíferos do tipo I. A comparação das propriedades da hexoquinase de vermes adultos com a hexoquinase de cercárias revelou-as idênticas, sugerindo que em *S. mansoni* existe somente uma forma da enzima.

Da mesma forma como para a hexoquinase de mamíferos, a enzima de *S. mansoni* sofre inibição pelo produto, isto é, pela glicose-6-fosfato (G-6-P). Entretanto, o K_i da G-6-P para a hexoquinase de *S. mansoni* é mais alto do que para a hexoquinase de mamíferos. Este resultado sugere uma adaptação evolutiva com respeito à enzima do parasito, no sentido de garantir um alto fluxo ao longo da via glicolítica. É interessante, no entanto, que a sensibilidade reduzida para G-6-P da hexoquinase de *S. mansoni* seja semelhante àquela de hexoquinases de células que estão realizando glicólise aeróbica intensamente.

Os resultados obtidos com a enzima nativa indicam que existe uma alta afinidade para a glicose, um resultado que é compatível com a atuação dessa enzima como 'sensor' de toda a via glicolítica, uma vez que, para que haja formação de lactato, basta que exista glicose no meio externo. No caso de *S. mansoni*, a presença de glicose no sangue do hospedeiro definitivo provavelmente constitui um importante sinal, que regula a transição ou ativação do metabolismo aeróbico das cercárias para a glicólise dos esquistossômulos (Horemans, Tielens & Van Den Bergh, 1992).

A reação catalisada pela enzima fosfoglicose-isomerase compreende a conversão da glicose-6-fosfato em frutose-6-fosfato e é também caracterizada por uma estereoespecificidade absoluta. Infelizmente não há dados recentes sobre essa enzima em *S. mansoni*. O trabalho original com a fosfoglicose-isomerase (Bueding & MacKinnon, 1955). revela apenas que esta possui um K_m semelhante àquela de músculo de coelho e que, em experimentos com anticorpos policlonais, as estruturas da enzima do parasito e do músculo de coelho parecem ser homólogas.

A etapa da glicólise envolvendo a enzima fosfofrutoquinase (PFK) corresponde ao consumo da segunda molécula de ATP e tem interesse intrínseco para a via, uma vez que se trata da enzima marca-passo da glicólise, passível de regulação. Ademais, no caso dos esquistossomos, a PFK é o alvo da ação de alguns fármacos baseados no antimônio e usados inicialmente na quimioterapia da esquistossomose. Dados estruturais (Ding, Su & Mansour, 1994), mostram que a PFK de *S. mansoni* possui massa molecular de 86 kDa, semelhante àquela de outros organismos, e exibe uma homologia maior com a PFK humana do que com a PFK de *H. contortus*. Para estudos cinéticos, a PFK de *S. mansoni* foi clonada e expressa (Su et al., 1996). Os resultados mostraram que a PFK recombinante do parasito é relativamente insensível às mudanças de pH na faixa entre 7,5 e 9,0, além de manter a maior parte de sua atividade mesmo em pH ligeiramente ácido. Isso sugere que, diferentemente da PFK de mamíferos, a enzima de *S. mansoni* talvez não tenha um papel regulador tão destacado. Classicamente, as enzimas de mamíferos sofrem inibição por ATP e ativação por AMP em pH neutro ou ligeiramente ácido. A PFK de *S. mansoni* é inibida por ATP em pH 6,9 e pH 8,0, porém somente em concentrações de ATP relativamente altas, variando de 0,8 mM a 2 mM. Esse resultado contrasta com a PFK de carneiro, que é completamente inibida por ATP em concentração de 0,25 mM em pH 6,9. Uma outra diferença marcante entre a PFK de mamíferos e de *S. mansoni* foi encontrada associada com o efeito do citrato. Nos mamíferos o citrato potencia a inibição do ATP. Em *S. mansoni*, entretanto, não houve potenciação da inibição do ATP pelo citrato, mesmo em altas concentrações.

Na célula, a regulação exercida pelo citrato constitui um importante fator regulador da glicólise. Em mamíferos, por exemplo, quando o nível de citrato produzido na mitocôndria pelas reações do ciclo de Krebs aumenta, aquele pode ser transportado para fora da organela através de transportadores específicos e inibir a PFK no citoplasma. Em *S. mansoni*, essa inibição da PFK pelo citrato não parece ocorrer. Esse resultado é importante no sentido de ressaltar a natureza predominantemente anaeróbica do metabolismo dos vermes adultos de *S. mansoni*. Nesse contexto, a atividade PFK de *S. mansoni* mostrou-se sensível ao pH; em pH 6,9, a atividade enzimática sofreu um decréscimo de 30% (Su et al., 1996). Embora os autores não considerem essa diminuição significativa, ela é importante em organismos que lançam mão da glicólise, mesmo que de forma temporária. Por exemplo, a PFK de animais é sensível ao pH e assim, quando a via glicolítica está ativa, a produção de lactato é suficiente para baixar o pH do microambiente, afetando desse modo a atividade da PFK. Como em *S. mansoni* o lactato é secretado na circulação sangüínea do hospedeiro, a glicólise não sofre inibição via inibição da PFK. Esses resultados reforçam a idéia de que os vermes adultos de *S. mansoni* são fermentadores homoláticos.

Com relação ao papel regulador do AMP, demonstrou-se que a PFK de *S. mansoni* foi ativada igualmente por AMP e AMP cíclico. A relativa insensibilidade à regulação demonstrada pela PFK dos parasitos reforça a idéia de que a via da glicólise é de fato a principal fonte de energia de *S. mansoni*.

A enzima frutose-1,6-bisfosfato aldolase de *S. mansoni* já foi clonada e expressa (El-Dabaa et al., 1998). Em função dos dados de homologia concluiu-se que a aldolase de *S. mansoni* parece pertencer à classe I, ou seja, é mais semelhante à enzima de vertebrados. Essa interpretação foi reforçada pela presença de um sítio de base de Schiff na sua estrutura primária. As aldolases da classe II de fungos e algas e de algumas bactérias não formam a base de Schiff com o substrato.

A existência de duas classes de aldolase na natureza é curiosa, uma vez que a glicólise anaeróbica certamente precedeu as vias aeróbicas, e por isso esperava-se a ocorrência de somente uma espécie da enzima. No entanto, como alguns organismos expressam as duas classes da aldolase, é possível que ambas sejam igualmente antigas.

Após a formação dos isômeros aldose e cetose, gliceraldeído fosfato e diidroxiacetona fosfato pela aldolase, a interconversão entre as duas trioses ocorre via reação catalisada pela enzima triose-fosfato-isomerase (TPI). A TPI de *S. mansoni* já foi clonada, seqüenciada e expressa, revelando uma massa molecular de 28 kDa e uma homologia relativamente alta com TPI de eucariotos. Vários trabalhos foram realizados avaliando as propriedades imunogênicas da TPI de *S. mansoni* em animais experimentais (Yang et al., 2000; Ham et al., 2000) e em humanos (Ribeiro et al., 2000).

A etapa da via da glicólise na qual ocorre a formação do primeiro composto intermediário rico em energia (que precede a formação de ATP) é a reação catalisada pela enzima gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase (GAPDH). Pelo fato de essa enzima constituir um importante alvo para estratégias de interferência, tanto com vacinas ou com quimioterápicos, há um grande interesse em investigar suas características estruturais e cinéticas. A GAPDH de *S. mansoni* já foi clonada, seqüenciada e expressa em diversos vetores (Argiro et al., 2000). Nessa molécula foram identificados alguns epitopos reconhecidos por linfócitos B e T. Determinou-se também que soros de indivíduos que vivem nas áreas endêmicas reconheceram a molécula da GAPDH recombinante de *S. mansoni* além de também inibir a sua atividade. Não há dados, no entanto, sobre as propriedades cinéticas da molécula e tampouco sobre o mecanismo da reação. Estudos semelhantes foram realizados em *S. japonicum* (Waine et al., 1993). Entretanto, com base na imunorreatividade de anticorpos monoespecíficos, as enzimas de *S. mansoni* e *S. japonicum* parecem ser diferentes.

A reação catalisada pela fosfoglicerato-quinase é aquela que gera também a primeira molécula de ATP da via glicolítica. Em *S. mansoni*, a enzima fosfoglicerato-quinase foi clonada e o produto desse gene foi caracterizado (Lee et al., 1995). Foi possível estabelecer homologia entre a enzima de *S. mansoni* e as de várias outras espécies de eucariotos. Sobre as enzimas enolase e piruvato-quinase de *S. mansoni*, não há dados recentes sobre cinética e mecanismo de ação.

Metabolismo do Glicogênio

A alta dependência metabólica de helmintos no catabolismo de carboidratos imediatamente suscita a pergunta sobre a reserva destas moléculas nos parasitos. O glicogênio já foi identificado em todos os estádios e espécies de esquistossomos (Rumjanek, 1987). Estudos preliminares mostraram que a quantidade

do polissacarídeo varia de acordo com a situação metabólica do parasito. No entanto, o estado nutricional do hospedeiro não parece influenciar na concentração de glicogênio em *S. mansoni*. De fato, admitindo-se que a via da glicólise depende diretamente da disponibilidade de glicose sangüínea, a menos que o hospedeiro apresente uma glicemia excessivamente baixa, é possível supor que mesmo valores baixos de glicose no sangue sejam ainda assim superiores ao K_m da hexoquinase de *S. mansoni*, garantindo desse modo um fluxo normal da via glicolítica do parasito.

Esta hipótese foi confirmada em estudos nos quais camundongos infectados com *S. mansoni* foram sujeitos à privação de alimentos. Os vermes perfundidos de animais em jejum e animais-controle apresentaram ambos os valores aproximados de glicogênio (Cornford, Diep & Rowley, 1983). Nestes experimentos, verificou-se também que a taxa de incorporação de glicose dos vermes obtidos de animais em jejum aumentou, mostrando haver algum mecanismo regulador controlando essa compensação.

Do ponto de vista de efetores da regulação da glicogenólise ou da glicogênese, já se demonstrou que a serotonina, que afeta a atividade muscular, pode modificar a quantidade de glicogênio. Não se sabe, entretanto, se flutuações dos níveis de serotonina no sangue do hospedeiro possuem um papel fisiológico na manutenção dos níveis de glicogênio parasitário. Nesse contexto, demonstrou-se que, em *S. haematobium* e *S. bovis*, o neurotransmissor acetilcolina foi capaz de afetar a incorporação de glicose através de receptores localizados no tegumento (Camacho & Agnew, 1995), fazendo com que indiretamente a acetilcolina também possa afetar a concentração de glicogênio nessas espécies. Interessantemente, não foi possível detectar a mesma resposta em *S. mansoni,* embora genes ortólogos codificando os receptores nicotínicos tenham sido caracterizados nessa espécie (Bentley et al., 2004).

Independentemente da possível participação de substâncias reguladoras, dados obtidos em experimentos com hamsters infectados e permanentemente canulados (para receber pulsos de glicose radioativa na circulação sangüínea) mostraram que a síntese de glicogênio em *S. mansoni* é constante e a concentração final de glicogênio nos vermes só parece depender do tamanho destes (Tielens, Van Den Heuvel & Van Den Bergh, 1990a).

Sabe-se também que vermes machos adultos que não estão acasalados exibem maiores quantidades de glicogênio do que os vermes acasalados. Essa diferença pode ser explicada tanto pela demanda energética, maior no caso do acasalamento, como também pela transferência de glicose, aparentemente vetorial, que ocorre do verme macho para a fêmea.

Entre as espécies de esquistossomos também existem variações intrínsecas na quantidade 'basal' de glicogênio. Dentre as espécies de interesse médico, *S. mansoni* apresenta a menor quantidade de glicogênio, em torno de 12 μg por verme adulto.

De que modo a glicose é incorporada ao glicogênio em *S. mansoni*? Nos mamíferos, a síntese de glicogênio segue vias diferentes, dependendo do tecido que está sendo analisado. No fígado, por exemplo, a maior parte do glicogênio é formada a partir de precursores de três átomos de carbono, como o lactato. Alternativamente, no músculo o glicogênio é formado diretamente a partir da glicose. Para se determinar a via de biossíntese de glicogênio em *S. mansoni*, realizaram-se experimentos utilizando glicose marcada com ^{14}C no carbono 6 e no carbono 1. Após incubação dos parasitos *in vitro*, verificou-se a posição do carbono radioativo nas moléculas de glicose do glicogênio sintetizado 'de novo'. Os resultados mostraram que mais de 99% das moléculas de glicose exibiam o ^{14}C na posição 6 da glicose, sugerindo que a síntese de glicogênio em *S. mansoni* ocorre diretamente a partir de glicose (Tielens, Van Den Heuvel & Van Den Bergh,

1990a). Esses experimentos mostraram também a ocorrência da síntese de glicogênio mesmo durante períodos de glicogenólise e vice-versa, isto é: a degradação do glicogênio poderia ocorrer também durante o processo de biossíntese. Ou seja, as vias de síntese e degradação de glicogênio são independentes entre si. No entanto, alguns experimentos realizados com miracídeos mostraram que, mesmo quando incubados na presença de glicose, os organismos degradavam antes as reservas endógenas de glicogênio (Tielens et al., 1991).

A glicose-1-fosfato é produzida na degradação do glicogênio pela fosforilase. A enzima fosfoglicomutase então catalisa a reação na qual a glicose-1-P converte-se em glicose-6-fosfato, e daí entra na via da glicólise. Em *S. mansoni* tal enzima já foi descrita, apresentando inclusive isoformas diferentes nos dois isolados (Sene et al., 1997).

Ambas as enzimas, a UDP-glicose pirofosforilase, que catalisa a formação de UDP-glicose, e a enzima glicogênio sintetase, que transfere a unidade glicosil da UDP-glicose para os grupamentos C4-OH de uma das extremidades não-redutoras do glicogênio, estão representadas no transcriptoma de *S. mansoni* (Verjovski-Almeida, 2003). Não se sabe, entretanto, se essas enzimas sofrem regulação alostérica.

Metabolismo Oxidativo: o ciclo do ácido cítrico

Nos eucariotos, as enzimas que atuam no ciclo do ácido cítrico e na oxidação dos ácidos graxos, além das enzimas e proteínas 'redox' (em oxidorredução) envolvidas no transporte de elétrons, localizam-se nas mitocôndrias. A presença de mitocôndrias nos vários estádios de *S. mansoni* está bem documentada, desde os trabalhos originais de Smithers et al. (Smithers, Roodwin & Wilson, 1965) até relatos mais recentes (Bieberich & Minchella, 2002). No tegumento dos vermes adultos, as mitocôndrias estão bem evidenciadas nos citons (células subtegumentares que formam sincícios agregando inúmeras organelas subcelulares) (Erasmus, 1987), bem como na maioria das células estudadas em nível de microscopia eletrônica. As mitocôndrias de *S. mansoni* podem ser purificadas mediante centrifugação diferencial usando um protocolo semelhante àquele utilizado para a purificação de mitocôndrias de outras células eucariotas (Cunha, De Souza & Noel, 1988), sugerindo que as organelas do parasito apresentam características morfológicas não muito distintas das demais. Estudos funcionais com enzimas tipicamente encontradas nas mitocôndrias reforçam a hipótese de que os componentes das mitocôndrias de *S. mansoni* são semelhantes em todos os aspectos àquelas de outras espécies (Fantappié et al., 1999).

O DNA mitocondrial (mt) de S. *mansoni* já foi inteiramente seqüenciado, revelando um tamanho de 14,4 Kb, sendo, portanto, um pouco menor que outros mtDNAs de metazoários (Le, Blair & McManus, 2002). A organização da região codificante é típica daquelas encontradas em outras taxas, exibindo genes adjacentes ou separada por seqüências intergênicas curtas. Existem 36 genes, sendo que, destes, 12 codificam proteínas, dois codificam RNA ribossomal e 22 codificam tRNA (Le et al., 2001). O gene do complexo da ATPase, atp8, está ausente.

O código genético do DNA mitocondrial de *S. mansoni* também difere do código universal, apresentando os códons AAA, AGA e AGG, e TGA especificando Asn, Ser e Trp, respectivamente. Foi observada uma diferença substancial entre as seqüências de DNA mitocondrial de *S. mansoni* e *S. japonicum* (Le et al., 2001). A transferência de material genético entre o núcleo e a mitocôndria também já foi relatada em *S. mansoni*. Entretanto, com respeito à herança materna do DNA mitocondrial, ainda existem algumas dúvidas (Bieberich & Minchella, 2001; Jannotti-Passos et al., 2001).

Em resumo, não há indícios de que as mitocôndrias de vermes adultos de *S. mansoni* sejam diferentes daquelas de outros organismos que realizam metabolismo aeróbico, ou metabolismo anaeróbico facultativo, a menos que, neste genoma mitocondrial, existam mutações pontuais que provoquem a terminação prematura da tradução de algumas proteínas essenciais para a integração das reações do metabolismo oxidativo. Essa interpretação não explica, entretanto, o fato de que as formas de vida livre de *S. mansoni* realizem o metabolismo aeróbico sem maiores impedimentos.

Com relação ao metabolismo oxidativo de células que exibem metabolismo anaeróbico facultativo, como por exemplo as leveduras, um teste que usualmente se aplica para verificar a interligação entre as vias anaeróbica e aeróbica é o do 'efeito Pasteur'. Esse efeito implica na diminuição do consumo de glicose pela glicólise quando o organismo é exposto ao oxigênio ou, inversamente, o aumento da glicólise ao se retirar o oxigênio.

Nenhum efeito Pasteur foi detectado em experimentos *in vitro*, nos quais vermes adultos de *S. mansoni* foram incubados por 12 dias em meio de cultura (Schiller et al., 1975). Em experimentos subseqüentes (Bueding & Fisher, 1982), foi medida a utilização de carboidrato, a formação de ácido lático e níveis de ATP em condições aeróbicas e anaeróbicas, novamente não se constatando o efeito Pasteur. Com a finalidade de confirmar esses resultados utilizando-se outras abordagens, e incluindo nos experimentos esquistossômulos, Thompson et al. (1984) investigaram o efeito de cianeto na produção de CO_2 pelos organismos. Somente os organismos recém-transformados eram sensíveis ao cianeto, porém após 24 horas a produção de CO_2 diminuiu em cerca de 77%, ao mesmo tempo em que a produção de lactato aumentou em cerca de 84%. Nesse trabalho, os parasitos adultos exibiram uma baixa produção de CO_2, reduzida na presença de cianeto. Os autores concluíram, pois, que não havia um efeito Pasteur significativo nos vermes adultos. No entanto, experimentos cuidadosos realizados com um meio de cultura mais rico mostraram que o efeito Pasteur poderia estar presente em vermes adultos, porém não seria tão facilmente detectável. Tal conclusão baseou-se na produção de CO_2 pelos parasitos, que em condições aeróbicas geraria pelo menos um terço da energia metabólica por intermédio do metabolismo oxidativo (Van Hellemond, Van Remoortere & Tielens, 1985). Essa pequena fração do metabolismo energético dependente do metabolismo aeróbico seria suficiente para, juntamente com a glicólise, contribuir com uma produção substancial de ATP, dada a maior eficiência da fosforilação oxidativa. Um outro ponto importante ressaltado nesse trabalho foi o de que, nos trabalhos anteriores, o efeito Pasteur poderia ter sido mascarado pela ocorrência simultânea de glicogenólise.

Cumulativamente, os trabalhos originais sobre o metabolismo oxidativo em vermes adultos de *S. mansoni* indicam que, em condições aeróbicas, o ciclo de Krebs poderia estar operando, porém não de forma plena. É relevante mencionar que, em *S. mansoni*, parece haver não uma alternância propriamente dita entre os tipos de metabolismo encontrados, mas sim uma predominância de um sobre o outro. Um exemplo em pauta são os esporocistos, que correspondem ao estágio subseqüente aos miracídeos (que exibem metabolismo oxidativo) e que parecem ser anaeróbios facultativos (Tielens et al., 1992), respondendo às condições de incubação por meio de uma mudança gradual para a via de glicólise anaeróbica. Essa flexibilidade é importante, uma vez que se sabe que, no caramujo *B. glabrata*, condições anaeróbicas podem, ocasionalmente, prevalecer.

Os experimentos realizados com esporocistos também mostraram que, em anaerobiose, ocorre a formação de succinato, pela reação catalisada pela enzima fosfoenol piruvato-carboxiquinase. Nesse

ciclo de reações, fosfoenolpiruvato é carboxilado, formando oxaloacetato. O oxaloacetato é então reduzido a malato, que por seu turno é transportado para dentro das mitocôndrias e reduzido a succinato, via fumarato. Essas reações exemplificam bem a coexistência de reações da via anaeróbica com aquelas da via do ácido cítrico. A propósito da produção de succinato pela redução de fumarato, mostrou-se que esporocistos contêm quantidades substanciais de rodoquinona. Essa quinona modificada, essencial para a redução do fumarato, é sintetizada 'de novo' pelos parasitos Van Hellemond, Van Remoortere & Tielens, 1997).

Para entrar no ciclo do ácido cítrico, o ácido pirúvico formado na via da glicólise anaeróbica reage com a coenzima A e NADH formando acetil CoA, uma reação catalisada pela piruvato-desidrogenase. Na verdade, a enzima piruvato-desidrogenase representa um complexo multienzimático contendo as enzimas diidrolipoil transacetilase e diidrolipoil-desidrogenase, que nos eucariotos realizam as cinco reações envolvidas na formação de acetil CoA. Acetil CoA é o substrato inicial das reações do ciclo de Krebs. Rigorosamente, a reação que forma esse composto, embora ocorra nas mitocôndrias, é considerada parte da via glicolítica. Apesar de não haver dados recentes sobre a atividade enzimática da piruvato-desidrogenase de *S. mansoni*, existem vários ESTs representados no banco de dados do transcriptoma (Verjovski-Almeida et al., 2003), o que faz supor que esta enzima esteja ativa nos vermes adultos. Não obstante, a descarboxilação do piruvato pelo complexo da piruvato-desidrogenase consiste numa reação irreversível e, desse modo, pressupõe que existam mecanismos finos de regulação, uma vez que essa etapa faz com que o piruvato, sob a forma de acetil CoA, entre no ciclo de Krebs e não esteja disponível para a formação de lactato. Tal regulação fica implícita também porque não existem outras vias de formação de acetil CoA nas células eucariotas. Canonicamente, o controle da piruvato-desidrogenase se dá ou por inibição pelo produto (acúmulo de NADH e acetil-CoA) ou por modificação covalente mediada por fosforilação/desfosforilação catalisada por quinases e fosfatases, respectivamente, que atuam sobre a enzima diidrolipoil transacetilase. Não se sabe, entretanto, se em *S. mansoni* este complexo atua sobre a piruvato-desidrogenase.

De forma geral, o ciclo do ácido cítrico é regulado pela disponibilidade de substratos, com inibição por produtos e outros intermediários de vias metabólicas que compartilham substratos. Nesse contexto, além de acetil CoA, já mencionado anteriormente, o oxaloacetato, juntamente com NADH, exercem classicamente importante papel na regulação do ciclo. Desse modo, seria necessário estabelecer se, em *S. mansoni*, vias alternativas de síntese de oxaloacetato, como por exemplo reações de transaminação, estariam ativas. Experimentos *in vitro* mostraram que, quando vermes adultos foram incubados em meio salino contendo glicose 6-^{14}C, bicarbonato e glutamato, há uma redução dramática na produção de CO_2, concomitante com um aumento na produção de alanina radioativa (Van Oordt et al., 1985). Tais resultados implicam presença de atividade de glutamato transaminase. No entanto, em *S. mansoni* existem poucos dados sobre a formação de oxaloacetato por meio de transaminação (Goldberg, Flescher & Lengy, 1979).

Sabe-se que as enzimas do ciclo de Krebs também sofrem regulação alostérica por ADP, ATP e Ca^{2+}, mas tais estudos ainda não foram realizados em *S. mansoni*.

Dentre as enzimas que constituem o ciclo de Krebs, somente a aconitase, que catalisa a formação de isocitrato, e a fumarase, que catalisa a formação de L-malato, não possuem dados funcionais na literatura e tampouco têm representatividade (*hits*) no banco de dados do transcriptoma de *S. mansoni*. A atividade da enzima succinato-desidrogenase já foi medida em *S. mansoni* e *S. japonicum*, sendo que em ambas as espécies a atividade foi baixa (Smith & Brown, 1977). Igualmente, a atividade da malato-desidrogenase já

foi medida em extratos de *S. mansoni*, sendo que, com exceção de uma publicação (Rotmans, 1978), os demais resultados sobre essa enzima concentraram-se na pesquisa de suas isoformas (Sene et al., 1997; Navarro, Cesari & Incani, 1992). Padrões de isoenzimas também foram relatados para a isocitrato-desidrogenase de *S. mansoni* (Conde Del Pino et al., 1968).

Como o ciclo do ácido cítrico é essencialmente anfibólico, isto é, realiza simultaneamente catabolismo e anabolismo, seria necessário obter informações sobre as vias metabólicas de *S. mansoni* que compartilham substratos, tais como a via da gliconeogênese (que utiliza oxaloacetato), síntese de lipídeos e de colesterol (que requer acetil CoA), síntese de aminoácidos (que utiliza o alfacetoglutarato para sintetizar glutamato, bem como oxaloacetato e alanina numa reação de transaminação para produzir aspartato e piruvato) e a via de síntese de porfirinas, que utiliza o succinil CoA como precursor. Contudo, essas informações não estão disponíveis na literatura médica, o que torna essencialmente especulativo o conhecimento atual sobre a integração do metabolismo oxidativo de *S. mansoni*.

Outras reações anapleróticas, ou seja, que suprem intermediários para o ciclo do ácido cítrico, também podem afetar o fluxo desta via metabólica. Por exemplo, a síntese de oxaloacetato a partir da carboxilação do piruvato poderia constituir potencialmente uma importante etapa reguladora do ciclo, fornecendo um dos substratos para a formação de citrato. De fato, sabe-se que a enzima piruvato-carboxilase exibe uma atividade substancial em vermes adultos de *S. mansoni* (menor que a atividade em fígado de rato e maior que no músculo esquelético de rato) (Tielens et al., 1991). A piruvato-carboxilase também está representada no banco de dados do transcriptoma de *S. mansoni*, mas, no entanto, não há informações sobre a integração dessa enzima no ciclo de Krebs mediante um possível efeito na biossíntese de oxaloacetato e, em conseqüência, se o nível de síntese de oxaloacetato seria suficiente para afetar o ciclo de Krebs.

Transporte de Elétrons e Fosforilação Oxidativa

A equação a seguir descreve resumidamente o que ocorre na oxidação completa da glicose com a participação de oxigênio molecular:

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$$

Como o hidrogênio não é transferido diretamente ao oxigênio, é preciso considerar as etapas intermediárias, nas quais os doze pares de elétrons derivados dos prótons são transferidos às coenzimas NAD^+ e FAD, formadas ao longo da glicólise e do ciclo de Krebs. Em seguida, os elétrons das coenzimas reduzidas são transportados seqüencialmente pela cadeia de transporte de elétrons, regenerando as coenzimas oxidadas. Durante esse processo, ocorre a formação concomitante de ATP com a energia derivada do transporte de prótons, pelas membranas mitocondriais. A síntese de ATP dependente do transporte de prótons é denominada de oxidação fosforilativa.

Na cadeia respiratória, os elétrons da coenzima NADH são primeiramente transferidos para a coenzima Q, por ação da enzima coenzima Q-redutase, que é um complexo composto por várias subunidades; não se sabe se todas estão presentes nas mitocôndrias de *S. mansoni*. A enzima coenzima Q-redutase está amplamente representada no banco de dados do transcriptoma de *S. mansoni*.

Os elétrons do succinato, que em *S. mansoni* pode ser formado por reações envolvendo concomitantemente a via anaeróbica e aeróbica, são transferidos para o complexo II, que contém a enzima

do ciclo de Krebs succinato-desidrogenase. Essa enzima está igualmente representada no banco de dados do transcriptoma. A coenzima Q reduzida pelo NADH transfere então os elétrons para o complexo III, formado pela coenzima Q-citocromo c-redutase.

O complexo IV, formado pela citocromo-c-oxidase, localiza-se na membrana interna da mitocôndria e corresponde à etapa terminal da cadeia respiratória, catalisando a redução do oxigênio molecular com dois pares de elétrons, sendo que esta reação também está acoplada à formação de um gradiente de prótons através da membrana. Cercárias e vermes adultos de *S. mansoni* possuem a citocromo-c-oxidase (Coles & Hill, 1972; Pereira et al., 1998). A citocromo oxidase de *S. mansoni* também foi localizada nas cristas mitocondriais, utilizando-se técnicas citoquímicas (Fujino, Fried & Takamiya, 1995). O gene da citocromo oxidase é um dos codificados pelo genoma mitocondrial de *S. mansoni* (Le et al., 2001). A expressão dessa enzima está associada à resistência ao tratamento com Praziquantel (Pereira et al., 1998). No entanto, como a atividade de citocromo-c-oxidase foi menor nas cepas resistentes do que nas susceptíveis, a interpretação desses dados ainda não está clara.

Do ponto de vista funcional, em *S. mansoni* existem evidências diretas e indiretas sobre a participação de componentes da cadeia respiratória na oxidação fosforilativa. Quando incubado com vermes vivos, o antibiótico oligomicina foi capaz de inibir a produção de CO_2 a partir de glicose (6-^{14}C), sugerindo assim que existe um acoplamento entre a degradação oxidativa da glicose e a síntese de ATP (Van et al., 1985). Nesse mesmo trabalho demonstrou-se que o efeito inibitório da oligomicina foi completamente revertido por FCCP (carbonilcianeto-p-trifluorometoxifenilhidrazona), um agente desacoplador da oxidação fosforilativa, o que confirma a ocorrência da síntese de ATP ao longo da cadeia respiratória.

Já se relatou a inibição produzida por partículas submitocondriais na síntese de ATP (Fantappié, 1999) e mostrou-se ainda que a síntese de ATP foi inibida por rotenona e por oligomicina, indicando um claro efeito dessas substâncias sobre a respiração mitocondrial, mais especificamente sobre a enzima NADH-desidrogenase. A estrutura da rotenona é análoga àquela da testosterona, o que pode explicar o efeito tóxico desse esteróide sobre *S. mansoni* (Eloi-Santos et al., 1992; Nakazawa et al., 1997). O efeito da oligomicina, embora não tão potente quanto a rotenona, indica que o componente F_0 da ATP sintase, transportadora de íons H^+, está ativo em *S. mansoni*, um resultado que reforça a idéia de que, nos vermes adultos, o catabolismo da glicose, via ciclo do ácido cítrico, mesmo que não predominante, está acoplado à síntese de ATP. É possível que, evolutivamente, o sistema da cadeia respiratória em *S. mansoni* represente uma fase intermediária, cuja função a longo prazo pode vir a perder a sua importância energética.

Metabolismo de Nucleotídeos

Além de constituírem as unidades monoméricas dos ácidos nucléicos, alguns nucleotídeos como os da adenina fazem parte da estrutura das coenzimas NAD^+, NADP, FMN, FAD e coenzima A, sendo assim compostos importantes em várias vias metabólicas das células. No metabolismo dos nucleotídeos, é necessário considerar as vias de síntese de purinas e de pirimidinas. Somente para a síntese do anel purínico existem canonicamente várias vias que contribuem com átomos de nitrogênio e de carbono oriundos de fontes variadas. Por exemplo, um dos nitrogênios origina-se do aspartato, o outro, da glicina, juntamente com os carbonos 4 e 5. O carbono 8 e o nitrogênio 9 vêm do formato, e o carbono 6, do bicarbonato. Segue-se uma via envolvendo dez etapas cujo produto final é o monofosfato de inosina, que

é o composto precursor de ribonucleotídeos da adenina e da guanina. Em *S. mansoni* não ocorre a síntese 'de novo' das bases purínicas; dessa maneira, é necessário ponderar que, nos parasitos, as vias de recuperação assumem o papel principal no aporte de nucleotídeos. Nessas vias, as bases aminadas são usadas como precursoras dos nucleotídeos. Em contraste com a síntese de purinas, as enzimas da via de síntese 'de novo' das pirimidinas parecem estar presentes em *S. mansoni* (Hil et al., 1981). Não obstante, o transporte de purinas e pirimidinas em *S. mansoni* já fora determinado (Levy & Read, 1975), confirmando que a inexistência de síntese 'de novo' desses compostos poderia ser adequadamente compensada pela disponibilidade de sistemas de transporte no parasito.

Uma das vias de recuperação da síntese de purinas usaria as bases hipoxantina, guanina e adenina, e a outra utilizaria nucleosídeos pré-formados. Nas vias de recuperação, a enzima fosforribosiltransferase seria essencial. Em *S. mansoni* foi descrita a expressão da enzima recombinante hipoxantina/guanina fosforribosil transferase em altos níveis (Craig et al., 1991). Essa enzima também constitui um alvo potencial para a quimioterapia, por inibidores específicos.

Na via de síntese de monofosfato de adenosina (AMP), as enzimas adenilosuccinato sintetase e adenilosuccinato liase têm igualmente papéis importantes. Embora a enzima adenilosuccinato sintetase ainda não tenha sido caracterizada em *S. mansoni*, o banco de dados do transcriptoma acusa vários registros de sua presença. Ao contrário, a adenilosuccinato liase já foi caracterizada no parasito (Foulk et al., 2002). O gene da adenilosuccinato liase foi localizado nos cromossomos de células sexuais de *S. mansoni* e, curiosamente, estabeleceu-se que essa enzima tem maior expressão em fêmeas adultas do que em vermes machos. Esse resultado talvez reflita a maior atividade de biossíntese de ácidos nucléicos na vitelária das fêmeas maduras.

Com relação às vias de recuperação das pirimidinas, além dos resultados pioneiros de Hill et al. (1981), as enzimas para a síntese de monofosfato de uridina já foram caracterizadas quanto a sua atividade (Iltzch et al., 1984). Esses dados mostram que, em *S. mansoni*, as vias de síntese 'de novo' e a via de recuperação de pirimidinas podem coexistir.

Metabolismo de Lipídeos

Embora rico em membranas, *S. mansoni* não parece ser capaz de sintetizar ácidos graxos de cadeia longa ou colesterol 'de novo' (Meyer, Meyer & Bueding, 1970) podendo, no entanto, alongar ácidos graxos incorporados. Tais experimentos basearam-se no fato de que vermes adultos incubados com acetato marcado não produziram esteróis e/ou ácidos graxos radioativos. Apesar de ocorrer a síntese 'de novo' de esteróis, *S. mansoni* é capaz de modificar as moléculas de colesterol incorporadas, produzindo hormônios esteróides próprios (Briggs, 1972). *S. mansoni* também é capaz de atuar sobre ácidos graxos do hospedeiro, após sua incorporação, e produzir compostos raros como o ácido 5-octadecanóico, que é encontrado com relativa abundância esterificado a fosfatidilcolina. Curiosamente, este ácido graxo concentra-se na membrana superficial do tegumento (Brouwers, 1998). Análise sistemática das subclasses de lipídeos presentes nas membranas do tegumento de *S. mansoni* revelou tipos variados como, por exemplo, os plasmalogênios 20:1-16:0 diacil fosfatidilcolina e 16:0-20:1 fosfatidiletanolamina. Potenciais precursores do fator de ativação plaquetário como o 1-hexadecil 2-palmitoil fosfatidilcolina também foram caracterizados (Brouwers, 1998).

De forma análoga à síntese 'de novo' de ácidos graxos, não há registros de trabalhos nos quais foi pesquisado o catabolismo de ácidos graxos por meio da β-oxidação. Essas observações são interessantes, considerando-se que o banco de dados do transcriptoma de *S. mansoni* contém várias das enzimas envolvidas tanto no transporte de ácidos graxos através da membrana mitocondrial como também na oxidação b. Assim, há ESTs para a enzima carnitina palmitoil transferase, que está envolvida no transporte de ácidos graxos através das membranas mitocondriais, e para as enzimas acil-CoA-desidrogenase, enoil-CoA-hidratase e 3-L-hidroxiacil-CoA-desidrogenase. Não há, entretanto, registros para a enzima β-cetoacil-CoA-tiolase. É essa última enzima que produz o encurtamento da cadeia de ácidos graxos em duas unidades de carbono. Embora a β-cetoacil-CoA-tiolase seja essencial para o funcionamento da via como um todo, não se pode afirmar, ainda, que sua falta no banco de dados signifique sua não existência de fato em *S. mansoni*. Como o transcriptoma cobre cerca de 92% do genoma, o gene que codifica aquela enzima pode ainda vir a ser caracterizado futuramente. De qualquer modo, já se demonstrou que miracídeos, que realizam o metabolismo oxidativo (ver anteriormente) mesmo em condições nas quais as reservas de glicogênio foram esgotadas, não modificam o seu conteúdo de triglicerídeos e tampouco sua composição de ácidos graxos (Tielens, 1991). Esses resultados sugerem que a β-oxidação de ácidos graxos, em resposta a um baixo nível calórico, não ocorre em *S. mansoni*.

Além da β-oxidação, existe também uma via minoritária de oxidação dos ácidos graxos, a oxidação ω, que corresponde à oxidação do último carbono dos ácidos graxos de cadeia longa e média. Este tipo de oxidação depende de enzimas do retículo endoplásmico que compõem o citocromo P_{450}, uma enzima da superfamília de monoxigenases que se liga ao heme e que usa NADPH e oxigênio molecular como co-fatores. Embora não se tenha informações sobre a ocorrência de oxidação ω em *S. mansoni*, o citocromo P_{450} ativo já foi descrito em vermes de *S. mansoni* e *S. haematobium* (Saeed et al., 2002). Nesse caso, entretanto, os autores propuseram que o citocromo P_{450} de *S. mansoni* possa estar mais envolvido na desintoxicação de drogas do que propriamente no catabolismo dos lipídeos por intermédio da oxidação ω.

Com relação à síntese de ácidos graxos, ocorre uma situação semelhante. A primeira enzima da via citoplasmática de síntese, envolvendo a enzima acetil-CoA-ACP transacilase, não tem ESTs equivalentes no banco do transcriptoma e a β-hidroxiacil-ACP deidrase só possui um EST análogo, que provavelmente é irrelevante devido à baixa homologia. No entanto, estão abundantemente representadas enzimas tais como a β-cetoacil-ACP-sintase (enzima condensadora) e a β-cetoacil-ACP-redutase.

Apesar de não haver síntese ou oxidação dos ácidos graxos, a incorporação de lipídeos pelos parasitos é intensa. Experimentos *in vitro* mostraram que várias classes de lipídeos são incorporadas com maior ou menor eficiência pelos vermes adultos (Rumjanek & Simpson, 1980). Esses experimentos mostraram também que ocorre a interconversão de lipídeos, de uma classe para outra. Por exemplo, os fosfolipídeos incorporados por *S. mansoni* sofrem, primeiramente, a ação de lípases e fosfolipases, e os ácidos graxos livres são, então, incorporados nos triglicerídeos e nos fosfolipídeos dos parasitos.

Aparentemente, os triglicerídios constituem a forma pela qual os ácidos graxos são armazenados em *S. mansoni*. Em outras espécies, a molécula de glicerol livre, formada após a ação das lípases sobre os fosfolipídeos, ingressa na via de formação de intermediários da via glicolítica, como o fosfato de diidroxiacetona. De acordo com o banco de dados do transcriptoma, *S. mansoni* possui as enzimas glicerol-quinase e glicerol-fosfato-desidrogenase. Desse modo, potencialmente, os parasitos podem incrementar a via glicolítica fornecendo mais intermediários. Entretanto, essa via consome uma molécula

de ATP e, por conseguinte, talvez não haja vantagem evolutiva explícita de incorporá-la na glicólise. De qualquer maneira, não há dados funcionais sobre a síntese de fosfato de diidroxiacetona a partir de glicerol em *S. mansoni*.

A interconversão de classes de lipídeos pelo *S. mansoni* provavelmente está associada à adaptação dos parasitos aos seus vários hospedeiros. Por exemplo, quando as cercárias penetram no hospedeiro definitivo, ocorre uma rápida mudança no padrão de lipídeos das membranas superficiais, que provavelmente resulta de reações de interconversão após a incorporação dos fosfolipídeos (Rumjanek & McLaren, 1981). Tais modificações são importantes, considerando-se que as cercárias se transferem de água doce, com temperaturas variando entre 18ºC e 25ºC, para um meio salino a 37ºC, e assim se inicia um intenso transporte de pequenas moléculas através das membranas do seu tegumento. Essa interconversão não está limitada a triglicerídeos e fosfolipídeos, pois ocorre também entre ceramida e esfingomielina (Redman et al., 1997).

Com relação ao metabolismo de esteróis, existem peculiaridades interessantes. Embora *S. mansoni* não seja capaz de sintetizar colesterol (Meyer, Meyer & Bueding, 1970), intermediários como o terpenóide dolicol-fosfato são aparentemente sintetizados pelos parasitos a partir de acetato (Tempone et al., 2002). Como as vias de síntese de terpenóides e de esteróis compartilham algumas reações, até a formação de farnesil pirofosfato, é possível que *S. mansoni* possua as enzimas que participam da síntese do esqualeno, mas não das etapas subseqüentes que envolvem a formação da estrutura cíclica do colesterol. Essa restrição seria devido à impossibilidade de o parasito utilizar diretamente o oxigênio molecular, uma característica comum a muitos endoparasitos. Na síntese de colesterol o oxigênio molecular é substrato para a formação de epóxido de esqualeno, uma etapa que precede a condensação da molécula para formar lanosterol. Essa hipótese é reforçada por exame do transcriptoma de *S. mansoni* que mostra que a enzima esqualeno epoxidase está ausente do banco de dados, embora todas as outras enzimas, incluindo a redutase da hidroxi-metilglutaril-CoA, estejam amplamente representadas (Verjovski-Almeida, 2003).

Nesse particular, a síntese de prostaglandinas (PG), cuja primeira etapa é catalisada pela ciclooxigenase, também requer a participação de oxigênio molecular. Experimentos preliminares medindo a formação de PGE_2 por homogeneizados de vermes adultos de *S. mansoni*, a partir de ^{14}C-ácido araquidônico, não conseguiram demonstrar a produção da prostaglandina por meio da análise de cromatografia de camada fina dos produtos formados (Rumjanek & Simpson, 1980). Contudo, resultados obtidos posteriormente em imunoensaios por Ramaswamy (Ramaswamy, Kumar & He, 2000), utilisando o ácido linoléico como substrato, mostraram que PGE_2 foi formada por vários estádios de *S. mansoni*. No entanto, esses resultados também mostraram que cercárias irradiadas não perdiam a capacidade de sintetizar prostaglandinas e que inibidores clássicos do sistema enzimático da ciclooxigenase não aboliam a síntese de PGE_2. Desse modo, é possível que a via de síntese de prostaglandinas em *S. mansoni* não siga as reações típicas de outros organismos. Nesse contexto, apesar de a indometacina, um inibidor não-esteróide da síntese de prostaglandinas, não afetar o metabolismo de lipídeos, ela é capaz de induzir paralisia geral e instantânea nos vermes adultos (Rumjanek & Cesari, 1981), sugerindo que esses agentes podem ter outros efeitos no parasito além daqueles citados para as ciclooxigenases. Resultados mais recentes mostraram que *S. mansoni* foi capaz de produzir PGD_2 (Angeli et al., 2001; Herve et al., 2003) e que as prostaglandinas secretadas pelos parasitos teriam um papel na imunomodulação do hospedeiro. Não há detalhes, entretanto, sobre os mecanismos das reações biossintéticas desses compostos.

Existem outras associações entre lipídeos e proteínas de *S. mansoni*. Por exemplo, foi caracterizada a ligação covalente entre ácido oléico e proteínas parasitárias formando proteolipídeos (Rumjanek & Curiel, 1983). Igualmente, já foram relatadas as ligações de proteínas com palmitato e etanolamina (Wiest et al., 1988), com ácido mirístico (Sauma & Strand, 1990), com terpenóides do tipo geranilgeranil (Loeffler & Bennett, 1996) e com o isoprenóide farnesil.

A ausência de síntese 'de novo' de ácidos graxos e de colesterol por *S. mansoni* pressupõe que existam mecanismos eficientes de captura de lipídeos do hospedeiro. Na verdade, esses mecanismos são deflagrados imediatamente após a penetração dos esquistossômulos na corrente sangüínea (Rumjanek, McLaren & Smithers, 1983) e parecem lançar mão da associação íntima entre as lipoproteínas do hospedeiro e os vermes adultos. Em função da rápida expressão de uma proteína de superfície nos esquistossômulos, em resposta à incubação com soro, postulou-se que os parasitos, obedecendo a sinal químico ainda desconhecido, expõem receptores de LDL nas membranas do tegumento. De fato a ligação de LDL aos parasitos parece seguir uma cinética típica daquela mediada por receptores (Rumjanek, Campos & Crocco-Afonso, 1988). A ocorrência de receptores de LDL em *S. mansoni* foi confirmada com outras abordagens experimentais (Rumjanek, Campos & Crocco-Afonso, 1988; Xu & Caulfield, 1989). Experimentos independentes envolvendo a ocorrência de receptores de LDL em *S. japonicum* confirmaram a semelhança estrutural (baseada na massa molecular) entre as duas espécies (Rogers et al., 1990). Recentemente, foi descrito outro receptor de lipoproteínas de baixa densidade (Fan et al., 2003). No entanto, não parece haver homologia entre o suposto receptor de LDL de *S. mansoni* e os receptores dos mamíferos (Schneider et al., 1972), uma vez que o receptor de *S. mansoni* parece ser menor.

Nos mamíferos, a transferência de colesterol e de triglicerídeos do plasma para as células se passa por meio da ligação e subseqüente endocitose dos complexos formados pela LDL e seus receptores celulares. Após degradação proteolítica da apoproteína no citoplasma e liberação dos lipídeos, os receptores de LDL são reciclados, voltando a ocupar um sítio na membrana celular, estando disponíveis dessa maneira para ligação com novas moléculas de LDL. No caso de *S. mansoni*, ainda não foi possível demonstrar nenhum evento no qual ocorresse fagocitose/endocitose. Assim sendo, pode se especular que o receptor de *S. mansoni* exibe apenas a atividade de ligação com a LDL humana, provavelmente devido à inexistência de moléculas semelhantes à clatrina nas membranas dos vermes ou por ausência de domínios relevantes à endocitose na molécula do receptor. Experimentos realizados com homogeneizados de vermes adultos de *S. mansoni* e LDL humana purificada confirmaram por calorimetria a ligação entre a LDL e proteínas presentes nos extratos (Tempone, Bianconi & Rumjanek, 1997).

Em razão dessa situação, foi proposto um modelo segundo o qual a LDL, carregada de lipídeos, liga-se com alta afinidade ao receptor de LDL nos parasitos, transferindo os lipídeos diretamente às membranas do parasito, por difusão. A propósito, não há dados sobre a existência, em *S. mansoni*, de proteínas homólogas à clatrina que nos mamíferos formam os trisquélios essenciais ao processo da fagocitose/endocitose mediada por receptores.

Em virtude desse 'defeito' do receptor de LDL de *S. mansoni*, não ocorre a endocitose do complexo LDL:receptor e tampouco a dissociação da molécula da apoproteína, possibilitando ao parasito adquirir, em sua superfície, uma camada extra imunologicamente inerte. Essa camada, em conseqüência, atuaria diminuindo possíveis lesões causadas pelos componentes da resposta imune tais como complemento, anticorpos e eosinófilos. Esse modelo de evasão imunológica pelos parasitos foi confirmado por uma

série de experimentos *in vitro* mostrando que parasitos pré-incubados com LDL humana purificada tornavam-se mais resistentes à ação de anticorpos e de eosinófilos (Rumjanek, McLaren & Smithers, 1983; Chiang & Caulfield, 1989).

O modelo ainda não foi testado *in vivo* devido às dificuldades intrínsecas envolvidas. Embora não tenha sido possível ainda purificar o receptor de LDL de *S. mansoni*, espera-se poder confirmar sua ocorrência por intermédio de experimentos cinéticos com a proteína recombinante do gene correlato.

ESTs para o gene do receptor de LDL estão amplamente representados no banco de dados do transcriptoma. O seqüenciamento completo do gene clonado encontra-se em andamento. A caracterização completa do receptor de LDL de *S. mansoni* também trará informações de grande interesse no contexto evolutivo. Nesse cenário será pertinente indagar de que forma ocorreu a adoção de um gene cujo produto está associado a um ligante do hospedeiro.

Glicoconjugados

A presença de glicoconjugados na superfície de *S. mansoni* foi inicialmente estudada por meio da ligação de lectinas nos parasitos (Simpson & Smithers, 1980). Em *S. mansoni*, glicoconjugados tais como glicolipídeos, glicoproteínas e glicosaminoglicanos são sintetizados principalmente mediante reações envolvendo os sistemas enzimáticos das glicosiltransferases. Glicosiltransferases de *S. mansoni* já foram descritas (Rumjanek & Smithers, 1978) e, aparentemente, a fração glicídica dos glicoconjugados presentes nos parasitos reflete a atividade dessas enzimas (Rumjanek, Broomfield & Smithers, 1979). Curiosamente, demonstrou-se que a enzima manosil transferase encontra-se associada às membranas externas dos vermes adultos (Simpson et al., 1981).

Várias estruturas de glicoconjugados já foram relatadas nas espécies de esquistossomo de interesse médico, tais como N-glicanos e O-glicanos associados a proteínas, glicoesfingolipídeos, polissacarídeos e ancoras GPI, como no caso do glicosilfosfatidilinositol (Sauma & Strand, 1990). Os N-glicanos encontrados nos esquistossomos são de forma geral semelhantes àqueles encontrados nos mamíferos, exibindo tipicamente glicanos com alto conteúdo de manose. Muitos desses complexos encontrados nos ovos de *S. mansoni* e *S. japonicum* contêm estruturas mais raras, incluindo ligações adicionais do tipo Fuca1-3GlcNac (Khoo et al., 1997). As glicoproteínas de cercárias possuem um alto peso molecular e são altamente fucosiladas. Nesse contexto, uma suposta alfa3-fucosil transferase foi descrita recentemente (Trottein et al., 2000). As glicoproteínas de membrana e aquelas secretadas possuem O-glicanos também comuns às glicopotreínas de mamíferos. As várias propriedades de glicosiltransferases bem como a estrutura dos glicoconjugados em esquistossomos foram descritas nas revisões de Khoo & Dell (2001) e Cummings & Nyame (1999).

PROTEASES E SUAS FUNÇÕES BIOLÓGICAS

O termo protease (ou proteínase) é usado para enzimas que catalizam a hidrólise da ligação peptídica. Inclui as exopeptidades que hidrolizam um ou dois aminoácidos terminais da cadeia polipeptídica e as endopeptidades que hidrolizam o interior da cadeia polipeptídica em diversos pontos, dependendo de sua especificidade. Já foram descritas várias proteases, nas diferentes fases do ciclo de *S. mansoni*, que

possuem funções importantes, tais como as desempenhadas na penetração da cercária no hospedeiro, na nutrição do parasito e em sua relação com o hospedeiro.

O Complexo Proteolítico da Cercária e seu Papel na Penetração da Pele do Hospedeiro

A cercária é constituída de um corpo alongado e uma cauda bifurcada (ver capítulo 3, para detalhes). A cercária é revestida de um tegumento contendo uma membrana trilaminada e, sobre esta, há o glicocálice (*coat*), rico em glicoproteínas. Toda sua superfície é coberta com espículas de 1mm de comprimento (Hockley, 1968).

O complexo secretório da cercária é constituído de três tipos de glândulas unicelulares: um par próximo à ventosa oral, dois pares pré-acetabulares e três pares pós-acetabulares. As glândulas pós-acetabulares secretam glicoproteínas liberadas, através de canais, junto à ventosa oral. Admite-se que sua secreção favoreça a adesão da cercária à pele do hospedeiro. As glândulas pré-acetabulares são constituídas de grânulos microscópicos contendo alta concentração de sais de cálcio e enzimas proteolíticas, consideradas importantes para a penetração da cercária através da pele (Stirewalt & Kruidenier, 1961; Dorsey & Stirewalt, 1971; Dorsey, 1976; Dorsey et al., 2002).

A maior parte da atividade proteolítica da cercária está localizada na secreção das glândulas pré-acetabulares, mas uma atividade proteolítica residual está presente nas glândulas pós-acetabulares (Dresden, 1972; Campbell et al., 1976; Baba et al., 1977; McKerrow & Doenhoff, 1988).

A infecção do hospedeiro humano se inicia com a penetração da cercária através da pele. Acredita-se que a penetração seja estimulada por ácidos graxos existentes na pele, como o ácido linoléico (Gordon & Griffiths, 1951; Stirewalt, 1974; Haas et al., 1997). Nesse processo, a cercária teria que atravessar a camada de queratina, a camada de células da epiderme, e sua membrana basal, e o tecido conjuntivo da derme, rico em colágeno e fibras elásticas, antes de cair na circulação. Vários investigadores sugeriram que a cercária usaria a secreção de suas glândulas para a penetração através da pele do hospedeiro (Stirewalt & Kruidenier, 1961; Gordon & Griffiths, 1951; Faust, 1920; Pinto & Almeida, 1945; Lewert & Lee, 1954; 1956; Wilson, 1987; McKerrow & Satter, 2002; Curwen & Wilson, 2003). Mas, para isso, ela teria que dispor de proteases com especificidades de queratinase, colagenase e elastase. Lewert & Lee (1954, 1956) demonstraram que a atividade proteolítica da cercária era capaz de liberar corante do substrato azocol (colágeno desnaturado ligado a corante) e uma pequena quantidade de hidroxiprolina de colágeno nativo. Todavia, a degradação de colágeno nativo não foi confirmada por Milleman & Thonard (Milleman & Thornard, 1959) e Dresden & Asch (1972). Em 1964, Gazzinelli & Pellegrino (1964) mostraram que a mais abundante atividade proteolítica da cercária era capaz de degradar uma preparação de elastina obtida do ligamento de nuca de boi (Tabela 1). Finalmente, com a utilização de substratos sintéticos e inibidores específicos, essa enzima foi purificada e caracterizada como uma elastase da subclasse das serina-proteases (Gazzinelli & Pellegrino, 1964; Gazzinelli, Ramalho-Pinto & Pelegrino, 1966; Gazzinelli, Mares-Guia & Pellegrino, 1972; Landesperguer, Stirewalt & Dresden, 1982; McKerrow et al., 1985). Embora sendo uma elastase, seu centro ativo era semelhante ao da quimiotripsina, já que possuía potente atividade sobre os substratos sintéticos Acetil-tirosina-etil ester (ATEE) e Acetil-fenilalanina-etil ester (AFEE) próprios da quimiotripsina (Gazzinelli, Mares-Guia & Pellegrino, 1972). Esses resultados foram confirmados posteriormente por Landsperguer et al. (Landesperguer, Stirewalt & Dresden, 1982), que estabeleceram

seu peso molecular em torno de 25 mil dáltons. Demonstraram, ainda, que a composição de aminoácidos da enzima da cercária diferia substancialmente da composição da quimiotripsina bovina, especialmente com relação a uma maior percentagem dos ácidos glutâmico e aspártico, refletindo, em seu ponto isoelétrico mais baixo, em torno de pH 6. Hoje há um consenso de que a principal atividade proteolítica da cercária é uma elastase, que pode ser classificada como uma serina-protease (as serina-proteases possuem, no centro ativo, uma serina necessária para se ligar ao substrato e os amionoácidos histidina e ácido aspártico necessários para a atividade catalítica). De acordo com McKerrow et al. (McKerrow et al., 1985), a elastase da cercária tem um peso molecular de 30 mil daltons, um pI de 8,0, um pH ótimo de 9,0 e uma dependência de Ca^{++} de 2mM. Além da atividade sobre elastina nativa, a enzima é capaz de hidrolizar várias proteínas desnaturadas, tais como azocol e gelatina. Trata-se de enzima codificada por família gênica conservada entre as várias espécies de *Schistosoma* (Salter, 2002).

Tabela 1 – Atividade elastolítica de extrato de cercárias

Preparação	Proteina (μg)	Incubação (h)	D.O. a 660 mμ*	Δ peso (mg)
Extrato n. 1	720	18	5.400	3,6
Extrato n. 2	283	40	18.424	9,8
Extrato n. 3	1.340	20	12.000	7,1
Quimotripsina	600	20	0,100	> 0,1
Tripsina	600	20	0,000	> 0,1

Obs.: Os extratos eram preparados com solução salina de cercárias liofilisadas.

* Corante liberado nos sobrenadantes por degradação enzimática de fragmentos de elastina preparada de ligamento de nuca de boi acoplada ao corante.

Δ= Diferença do peso da elastina, antes e após incubação (Gazzinelli & Pellegrino, 1964).

Além da atividade elastolítica, demonstrou-se ainda, em extratos de cercária, uma atividade residual sobre a queratina e sobre uma preparação de proteínas que incluem fibronectina, laminina e colágenos IV e VIII da membrana basal (Dresden & Asch, 1972; McKerrow, 1985; Tzeng et al., 1983).

Estes resultados, em conjunto, sugerem a possibilidade de que o complexo proteolítico da cercária possa atuar no processo de penetração através da pele, mas não indicam a sua essencialidade. Para tanto, seria necessário o desenvolvimento de inibidores que não interferissem na motilidade do parasito ou, alternativamente, a obtenção de cercária desprovida da atividade proteolítica das glândulas pré-acetabulares (*knock out*). De acordo com McKerrow et al. (McKerrow et al., 1985), alguns inibidores sintéticos tais como Suc-Phe-Gly-Ala-Leu clorometil cetona e outros inibidores da quimiotripsina são capazes de inibir a penetração da cercária, sem interferir em sua motilidade. Entretanto, é difícil avaliar se a motilidade da cercária foi afetada. Revisão mais detalhada e atual do mecanismo de penetração da cercária pode ser encontrada nos artigos de McKerrow & Satter (2002), Curwen & Wilson (2003) e McKerrow (2003), embora muitas dúvidas ainda persistam. Não se pode, por exemplo, descartar a possibilidade de que tais enzimas das glândulas das cercárias sejam indispensáveis para a nutrição da larva durante sua estada na pele.

A contração de fibras musculares do corpo e da cauda da cercária é essencial para a penetração. Todo o estoque de glicogênio do corpo e da cauda da cercária é gasto durante o processo, para o fornecimento da energia necessária à penetração do parasito (Oliveira et al., 1975).

Após a penetração do corpo da cercária através da epiderme, inicia-se o processo de sua transformação em esquistossômulo (ver transformação da cercária).

Enzimas Digestivas (Hemoglobinase)

A hemoglobina do hospedeiro é uma das principais fontes utilizadas para a nutrição do parasito. As hemácias ingeridas pelo parasito são lisadas por um fator hemolítico descrito no homogenato do verme adulto e a hemoglobina liberada é então hidrolisada. A principal enzima responsável por esta hidrólise é uma endopeptase, a cisteinil protease, com especificidade semelhante à das catepsinas B e L. A enzima se apresenta sob duas formas de massas moleculares, de 27 mil e 32 mil daltons (Sauer & Senft, 1972; Chappell & Dresden, 1987). Além dessa protease, várias peptidases, que completam a hidrólise das proteínas, já foram demonstradas no tubo digestivo de *S. mansoni*, por meio de imunoistoquímica (Bogitsh & Kirschner, 1986; Bogitsh et al., 2001; Foster & Bogitsh, 1986).

Outras Proteases e Peptidases de *S. mansoni*

Inúmeras proteases e peptidases já foram descritas em diferentes fases de desenvolvimento de *S. mansoni,* com a utilização de substratos protéicos, peptídeos e inibidores específicos. Muitas dessas enzimas estão associadas ao tegumento do parasito (Foster & Bogitsh, 1986; Auriault et al., 1982; Damoneville et al., 1982). A função biológica dessas enzimas ainda não está completamente esclarecida. Segundo Auriault et al. (1981), uma metaloproteinase presente no tegumento do esquistossômulo e do verme adulto, capaz de hidrolisar imunoglobulina do hospedeiro, estaria envolvida no mecanismo de proteção do parasito contra o efeito citotóxico do anticorpo e do sistema do complemento do hospedeiro.

Duas tio-proteases já foram purificadas a partir do ovo de *S. mansoni*, que aparentemente se originam de glândulas do miracídio no interior do ovo (Sung & Dresden, 1986). Ainda não se conhece a função dessas proteases. Outra atividade proteolítica do ovo é a da Leucina aminopeptidase, cuja inibição impede a saída do miracídio do ovo (Xu & Dresden, 1986).

Eventos Biológicos e Bioquímicos Envolvidos na Transformação Cercária-Esquistossômulo

A transformação da cercária em esquistossômulo envolve:

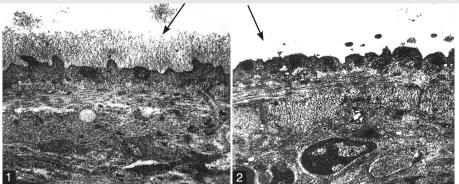
- perda da cauda;
- eliminação da secreção proteolítica;
- eliminação do glicocálice (camada de glicoproteínas que reveste a membrana da cercária);
- transformação da membrana do parasito de trilaminada para pentalaminada (Stirewalt, 1974);
- alteração do metabolismo de aeróbico para anaeróbico. Esse processo pode ser reproduzido *in vitro,* removendo-se a cauda por meios mecânicos e incubando os corpos cercarianos em meio adequado. O método é simples e passível de monitoramento, baseado na inviabilidade do esquistossômulo em água, meio em que a cercária sobrevive naturalmente, e na sensibilidade da cercária ao sistema de complemento (Gazzinelli et al., 1973; Machado et al., 1975).

A retirada da cauda é o evento indutor do processo de transformação (Howells et al., 1975; Howells et al., 1974). Os corpos cercarianos resultantes, quando incubados em meio adequado, eliminam material das glândulas e sofrem alteração de sua permeabilidade, que gradualmente tornam sensíveis à água e insensíveis ao sistema de complemento. Essa alteração ocorre simultaneamente com perda do glicocálice rico em glicoproteínas, que reveste toda a superfície da cercária, como mostram a micrografia eletrônica (Figura 1) e a Tabela 2 (Oliveira et al., 1975; Howells et al., 1975; Ramalho-Pinto et al., 1974).

Durante a transformação há consumo de glicogênio e uma mudança do metabolismo da larva (mas não da cauda), de aeróbica para anaeróbica (Ramalho-Pinto et al., 1975; Von Kruger et al., 1978; Castanheira, Gazzinelli & Figueiredo, 1981). A eliminação do glicocálice da cercária é essencial para a alteração da permeabilidade, permitindo a entrada de aminoácidos e, em conseqüência, a síntese de proteínas necessária ao desenvolvimento do esquistossômulo (parasito jovem).

Utilizando-se aminoácidos C^{14}, demonstrou-se que a síntese de proteína ocorre, preferencialmente, na membrana (Nagai et al., 1977), que durante a transformação evolui de uma membrana trilaminada para uma membrana pentalaminada (dupla membrana, resultado da fusão de duas membranas trilaminadas) (Stirewalt, 1974; Hockley & McLaren, 1973).

Os esquistossômulos permanecem na derme por 48-72 horas e, em seguida, migram para os pulmões. Apenas 30%-40% sobrevivem, escapando à ação do sistema imune do hospedeiro e se desenvolvendo em vermes adultos.

Figura 1 – Foto micrográfica de cercária (1) e do esquistossômulo (2). Nota-se ausência do glicocálice após a transformação

Fonte: Ramalho-Pinto et al. (1974).

Eventos Biológicos e Bioquímicos Envolvidos no Escape do Parasito

As cercárias que penetram e se transformam em esquistossômulos, em animais infectados experimentalmente, estão sujeitas à ação de anticorpos específicos citotóxicos mediada pelo sistema de complemento (Clegg & Smithers, 1968, 1972; Murel & Clay, 1972; Capron et al., 1974; Dean, Wistar & Chen, 1974). Cerca de 1/3 dos esquistossômulos escapam da atividade citotóxica, que pode ser avaliada *in vitro* em se incubando o parasito com soro hiperimune e soro de cobaia como fonte de complemento (Smithers, Terry & Hockley, 1969; Goldring et al., 1977). Este teste se baseia na resistência apresentada por esquistossômulos incubados *in vitro* com eritrócitos humanos, sugerindo que a proteção contra o

efeito citotóxico é adquirida através da adsorção, pela membrana dos esquistossômulos, de substâncias macromoleculares de eritrócitos do hospedeiro. Posteriormente, foi identificada, ancorada na membrana de esquistossômulos incubados com eritrócitos normais, a glicoproteína DAF (*Decay accelarating factor*) (Horta & Ramalho-Pinto, 1982), que protege o eritrócito contra a lise mediada pelo complemento, inibindo a C3-convertase (Medof, Kinoshit & Nussenzweig, 1984). Eritrócitos desprovidos de DAF não induzem proteção ao esquistossômulo. A incubação com soro inativado também confere proteção ao esquistossômulo (Tavares et al., 1978), o sugerindo que outras moléculas podem se ligar à membrana dos esquistossômulos. Por exemplo, a lectina (concanavalina A) adicionada ao meio de cultura foi também capaz de conferir proteção ao esquistossômulo contra o anticorpo citotóxico (Pijkeren, Tavares & Gazzinelli, 1982), provavelmente mediante ligação da lectina com receptores de concanavalina A, cuja existência na superfície do esquistossômulo foi demonstrada por Murrell et al. (Murrel et al., 1978). A adição de puromicina (inibidor de síntese de proteínas) ao meio de cultura neutralizava parcialmente a proteção induzida por soro inativado. Daí se conclui que, além da ligação de substâncias de eritrócitos ou do soro na superfície do esquistossômulo, a sintese 'de novo' de proteínas no tegumento é também necessária para a aquisição de proteção contra o efeito citotóxico de anticorpo e sistema de complemento (Tavares et al., 1978). Portanto, a proteção adquirida pelos esquistossômulos que escapam à ação do sistema imune se deve a alterações na membrana, por intermédio de uma rápida síntese de proteínas 'de novo' (*turnover*) bem como pela aquisição de macromoléculas do hospedeiro.

Tabela 2 – Secreção glandular de corpos cercarianos a 30ºC no meio de cultura Hanks-BSS

Tempo de incubação	Material glandular residual (%)		
(min)	Protease*	Alizarina**	PAS***
0	100	100	100
10	108	95	90
40	64	62	42
80	48	36	38

* Atividade específica do extrato larval em acetil-tirosina-etil Ester.

** Coloração por alizarina.

*** Coloração por reagente de Schiff.

Fonte: Oliveira et al. (1975).

Essa interpretação é coerente com as observações de Hockley (1968) e Wilson & Barnes (1977), que descreveram a alteração da membrana externa do parasito de tri para pentalaminada com o desenvolvimento e, com a verificação de uma síntese preferencial de proteínas do tegumento, após a transformação da cercária em esquistossômulo (Nagai et al., 1977; Wilson & Barnes, 1977; Kusel & Mackenzie, 1975; Cordeiro & Gazzinelli, 1979; Cordeiro et al., 1984). Tais alterações estruturais incluem também processos de troca de lipídeos, provavelmente envolvendo interações com lipoproteínas do soro e captação de glicolipídeos do hospedeiro (Rumjanek & Curiel, 1983). A aquisição *in vivo* de antígenos do hospedeiro pelo parasito jovem foi demonstrada com transferência de vermes de 12-14 dias de desenvolvimento de

um hospedeiro para outro, de diferentes espécies, previamente imunizados contra glóbulos vermelhos do doador (Coelho, Gazzinelli & Pellegrino, 1980).

REPRODUÇÃO DE *S. mansoni*: AMADURECIMENTO SEXUAL E MEDIADORES QUÍMICOS

A relação conjugal entre macho e fêmea de *Schistosoma mansoni* e a história natural do seu desenvolvimento sexual representa um dos mais interessantes capítulos de toda a parasitologia. Inúmeros estudos se propõem a entender o desenvolvimento sexual das fêmeas e a desvendar a natureza do estímulo que controla e mantém tal processo. Muito embora a natureza do estímulo (físico ou químico) seja motivo de controvérsia, os pesquisadores concordam que o acasalamento é um requisito indispensável para que ocorra a maturação e migração das fêmeas para o sítio definitivo de permanência no sistema vascular do hospedeiro vertebrado. Os parasitos do gênero *Schistosoma*, por serem dióicos, situam-se entre os primeiros metazoários a desenvolverem sexos separados, constituindo uma exceção entre trematódeos da ordem Digenea, cujos membros são hermafroditas (Pessôa, 1963; Rey, 1992). A característica atual dos dióicos pode ter resultado de um processo evolutivo gradual ou brusco do protândria (hermafroditismo seqüencial pelo qual um indivíduo passa de macho a fêmea) ou estádio de protogênia (hermafroditismo seqüencial pelo qual um indivíduo passa de fêmea a macho) alcançado pelos antepassados hermafroditas (proto-esquistossomas). Com a separação dos sexos e a conseqüente necessidade de fertilização cruzada, a evolução de *Schistosoma* foi provavelmente acelerada pela união dos genomas de macho e fêmea em diferentes hospedeiros, tais como pássaros, mamíferos migratórios ou ainda répteis da era mesozóica (Basch, 1990).

A hipótese de que o sexo poderia ser determinado, no gênero *Schistosoma*, por cromossomas, foi levantada no começo do século e ganhou apoio com o estudo publicado por Cort em 1921 (Cort, 1921). O sexo é determinado no zigoto por mecanismo cromossomal, baseado na presença e ausência de cromossomo W, como proposto por Atkinson (1980). A fêmea de *Schistosoma* (2n=16) é heterogamética, ZW, e o macho, homogamético, ZZ (Short, 1983). O sexo em *Schistosoma* é predeterminado no momento da fertilização dos ovos (formação do zigoto) no hospedeiro vertebrado, e as cercárias, advindas de um único miracídio, resultam da amplificação do genoma por reprodução assexuada, no caramujo. Um único miracídio produz uma população clonal de cercárias de um mesmo sexo.

Desenvolvimento da Fêmea

O completo desenvolvimento somático e a maturidade sexual da fêmea só ocorrem na presença de contato físico com o macho apropriado (Basch, 1991). Entretanto, alguns autores acreditam que o contato da fêmea com o macho não é espécie-específico e, em raros casos, não é nem gênero-específico (Vogel, 1941). Deve ser enfatizado, contudo, que essa dependência da fêmea não é absoluta, no escopo do gênero *Schistosoma* (Short, 1957).

A sistematização do estudo no desenvolvimento sexual da fêmea iniciou-se com estudos de Sagawa, Ogi & Sumikoshi (1928) e Severinghaus (1928), que mostraram que fêmeas de *S. japonicum*, obtidas de infecção unissexual, não alcançavam maturidade reprodutiva e eram menores do que as fêmeas de infecções bissexuais. Mais tarde este fenômeno foi descrito para as espécies *S. haematobium*, *S. bovis* e *S. mansoni*

(Vogel, 1941; Brumpt, 1936; Maldonado & Herrera, 1949; Moore,Yolles & Meleney, 1954). Todavia, deve-se ressaltar que nas espécies *Schistosomatium douthitti* e *Heterobilharzia americana* as fêmeas mostram uma menor dependência dos machos para sua maturação (Short, 1952, 1957; Taylor, Amin & Nelson, 1969) e, na espécie *S. mattheei*, elas podem se desenvolver e produzir ovos na ausência de machos, embora os ovos, em geral, não sejam viáveis (Taylor, 1971). A obtenção de ovos de *S. haematobium* com miracídios móveis produzidos por fêmeas obtidas de hamsters, experimentalmente infectados com cercária de um único sexo, já foi também descrita por Khalil & Mansour (1995), segundo os quais as fêmeas de *S. haematobium* também podem apresentar partenogêneses. As fêmeas não acasaladas são acompanhadas por uma série de alterações estruturais e metabólicas, cujo determinante primário seria, provavelmente, a ausência de algum estímulo físico e/ou químico fornecido pelo macho. Análise comparativa dos elementos cálcio, fósforo, potássio, magnésio e enxofre em fêmeas de infecções uni ou bissexuadas mostra apenas uma concentração de cálcio significativamente mais baixa em fêmeas de infecções unissexuais (Shaw, 1986; Shaw & Erasmus, 1983). Também foram encontradas diferenças antigênicas entre fêmeas de infecções uni e bissexuais (Aronstein & Strand, 1984).

Fêmeas sexualmente maduras (adultas) de *S. mansoni*, oriundas de infecções bissexuais, quando transplantadas cirurgicamente para hamsters ou ratos, simulando infecção unissexual, apresentam alterações degenerativas, no seu tamanho e nas glândulas vitelinas, três dias após o transplante; já no ovário, as alterações aparecem seis dias depois do transplante (Clough, 1981). Estudo de microscopia eletrônica detectou células vitelinas atípicas dois dias após o transplante. Tanto o ovário como as células vitelinas apresentavam alterações na diferenciação, bem como morte celular (Popiel & Basch, 1984a).

Resultados semelhantes foram obtidos usando-se outros procedimentos. Animais com infecções bissexuais de *S. mansoni* foram tratados com a droga oxamniquine (1,2,3,4-Tetrahydro-2-isopropylaminomethyl-7-nitro-6-quinolylmethanol), que elimina quase completamente os vermes machos. Nessas condições, as fêmeas mostraram redução no peso corporal, assemelhando-se a adultos imaturos sexualmente. Uma segunda dose de oxamniquine não apresentou nenhum efeito aparente nas fêmeas, sugerindo, então, que as alterações no *status* reprodutivo observadas seriam resultantes da descontínua estimulação do macho (Popiel & Basch, 1984b). Experiências subseqüentes, com fêmeas apresentando as alterações degenerativas supracitadas, em nível reprodutivo e somático, quando acasaladas e transferidas para hospedeiros (ratos do Nilo), apresentaram sinais inequívocos de desenvolvimento somático e maturação sexual após três dias de implantação, sugerindo que o efeito observado realmente não fora devido ao oxamniquine, mas à ausência do macho. Constatou-se, ainda, que as alterações observadas eram reversíveis (Popiel & Erasmus, 1982).

O aspecto mais fascinante sobre o desenvolvimento sexual de fêmeas de *Schistosoma* é a investigação da natureza e controle do(s) estímulo(s) produzidos pelos machos, capazes de desencadear o desenvolvimento e maturação sexual da fêmea. Sabe-se hoje que o estímulo do macho é necessário não só para as fêmeas alcançarem seu pleno desenvolvimento somático e maturidade reprodutiva, mas também para mantê-las em fase reprodutiva (Basch, 1991).

Diferentes hipóteses foram formuladas para explicar a natureza do estímulo que determina e controla o desenvolvimento reprodutivo somático das fêmeas (Ribeiro-Paes & Rodrigues, 1997).

Michael (1969) acasalou *in vitro* fêmeas de *S. mansoni*, recentemente isoladas, com machos cujos testículos foram eliminados com a manutenção prolongada *in vitro* ou por exposição aos raios X. Tanto

os machos com testículos íntegros quanto os com testículos deteriorados, todos recém-isolados, estimularam a taxa de postura de ovos e o desenvolvimento das fêmeas. Desta maneira, nem acasalamento, nem estímulo de oviposição dependem de testículos íntegros, esperma viável ou algo secretado com o esperma. Resultado semelhante foi relatado por Shaw (1977), quando este concluiu que a inseminação por si só não seria o 'ativador' para o desenvolvimento das fêmeas.

Outros investigadores mostraram que o desenvolvimento de fêmeas pode ocorrer na ausência de esperma no oviduto (Basch & Basch, 1984; Erasmus, 1973).

Outra hipótese para explicar a maturação de fêmeas refere-se a estímulos induzidos por hormônio. Essa hipótese ganhou força com a descoberta de feromônios em insetos (Karlson & Lüscher, 1959). O hormônio chamado ecdisona, originalmente caracterizado como responsável pela diferenciação durante o processo de muda de insetos, bem como o esteróide 20-hidroxiecdisona, já foram detectados em S. *mansoni*. Tais hormônios estão, possivelmente, relacionados com o desenvolvimento e maturação sexual de fêmeas (Torpier et al., 1982; Nirdé et al., 1983).

Em drosófila, a ecdisona estimula a síntese e secreção de polipeptídeos do ovo. Neste contexto, é interessante ressaltar que a imunorreatividade a ecdiesteróides em *S. mansoni* foi localizada na entrada do ducto vitelínico, próximo ao oótipo, sugerindo papel da ecdisona, nesse parasito, análogo ao dos insetos (Legay, 1976).

Vogel (1941), para explicar a dependência do macho no desenvolvimento sexual da fêmea, propôs que o macho contribuiria para a nutrição da fêmea, colaborando para o seu pleno desenvolvimento somático. Esta abordagem, que enfatiza a importância de vermes machos no processo de nutrição de fêmeas de *Schistosoma mansoni*, foi retomada por Gupta & Basch (1987b) e discutida com mais detalhes em interessante artigo publicado por Basch (1990). De acordo com estes investigadores, durante o desenvolvimento do parasito, a necessidade de alta eficiência reprodutiva induziria a fêmea a sacrificar, em processo seletivo, alguns de seus elementos estruturais, tais como os músculos da faringe e locomotores. Estas perdas teriam levado as fêmeas à dependência do macho, que, conseqüentemente, teria desenvolvido a sua musculatura a ponto de esta permitir a transferência de nutrientes do sangue do macho para a fêmea. Assim, os machos garantiriam a sobrevivência da espécie "não apenas por doar esperma, mas também por oferecer músculo" (Basch, 1990; Gupta & Basch, 1987b).

Além da participação dos hormônios, a transferência de nutrientes, do macho para a fêmea, tal como glicose (Cornford, 1986; Cornford & Huot, 1981; Cornford & Fritzpatrick, 1985), colesterol (Haseeb, Eveland & Fried, 1985; Popiel & Basch, 1986), polipeptídeos e glicoproteínas (Basch & Nicolas, 1989), têm sido propostos como indutores do desenvolvimento sexual das fêmeas outros tipos de mensageiro, como por exemplo os neuropeptídeos (Skuce et al., 1990). De acordo com alguns investigadores, o contato macho/fêmea pode resultar em alterações de permeabilidade e captação de nutrientes em regiões específicas do tegumento da fêmea (Erasmus, 1986; Popiel & Erasmus, 1981). Dados experimentais mostram o aumento de 35% a 40% na incorporação de [^{3}H]-timidina, medida indireta de síntese de DNA, depois que fêmeas de *S. mansoni* foram colocadas em contato com machos (Den & Erasmus, 1984). Também o acasalamento de fêmeas de infecções de único sexo com vermes machos resultou numa elevação de incorporação de [^{3}H]-tirosina, avidamente captada por células vitelinas (Popiel & Erasmus, 1981; Erasmus, 1975).

Atkinson & Atkinson (1980) relataram a existência de um polipeptídeo de 66 kDa, sintetizado por machos e transferido para as fêmeas. Entretanto, esse achado não foi confirmado em outros estudos. Por exemplo,

Popiel & Bash (1984a), utilizando parasitos marcados com Leucina ^{14}C, *in vivo* e *in vitro*, constataram que, embora fêmeas dos vermes tenham captado pequena quantidade de produtos metabólicos derivados de machos, não foi observada a transferência de um polipeptídeo específico de 66 kDa em quantidades significativas.

Shaw (1977) observou que fêmeas obtidas de infecções unissexuais foram estimuladas por extratos de vermes machos, solúveis em éter e acetona. Este resultado, entretanto, parece ocorrer somente em uma linhagem particular de *S. mansoni* (fêmeas de Cardiff), cujas células vitelinas das fêmeas são capazes de se desenvolver na ausência de machos. Popiel (1986) e Kunz et al. (1995) sugeriram que a proliferação das células vitelinas maduras seria induzida por um sinal agindo como mitógeno, isto é, estimulando a proliferação das células tronco-vitelinas. Segundo os autores, uma série de moléculas participariam na transdução de sinal em *S. mansoni*, mediando o processo de proliferação de células vitelinas. Para demonstrar a transferência de colesterol, machos e fêmeas adultos de *Schistosoma mansoni* foram incubados 24 h em meio contendo [^{3}H]colesterol. Os vermes marcados foram acasalados com um par não marcado, *in vitro* ou *in vivo*, por implantação cirúrgica em hamsters. Durante o período de acasalamento os vermes marcados perderam até 65% de seu [^{3}H]colesterol, captado pelo seu par não marcado. Em ambos, machos e fêmeas, não marcados, acasalados com vermes marcados, os níveis de [^{3}H]colesterol foram mais altos que controles não acasalados. Isto sugere que a transferência de colesterol entre pares de vermes é bidirecional e é facilitada pelo contato físico mediante justaposição das membranas. A troca de colesterol em pares de vermes de *Schistosoma* seria, provavelmente, uma conseqüência parcial ou total da renovação da molécula no tegumento (Popiel, 1986).

O estímulo táctil, que ocorre no contato macho-fêmea, também parece ser importante na maturação sexual das fêmeas (Popiel & Erasmus, 1982; Robinson, 1960). A importância do estímulo táctil foi mostrada num interessante experimento executado por Popiel & Basch (1984b). Machos e fêmeas de *S. mansoni* foram cortados em segmentos, pareados em diferentes arranjos e combinações e transferidos para as veias mesentéricas de hamsters ou cultivados *in vitro*. O acasalamento ocorreu entre vermes íntegros ou entre segmentos de machos com as fêmeas íntegras, tanto no hospedeiro como *in vitro*. Na maioria das fêmeas acasaladas com os segmentos ocorreu algum desenvolvimento do sistema reprodutivo, avaliado por diferenciação de glândulas vitelinas. O desenvolvimento das glândulas foi restrito à porção de contato com os fragmentos do macho, que continuaram a exibir contrações normais do corpo e integridade morfológica durante os 24 dias de manutenção *in vitro*. Daí os autores concluíram que:

- na ausência de intestino funcional, segmentos de vermes podem sobreviver, durante períodos prolongados, com nutrientes absorvidos através do tegumento;
- o desenvolvimento da fêmea é independente de controle do sistema nervoso;
- o fator estimulador dos machos não tem localização centralizada;
- a diferenciação das glândulas vitelinas na fêmea requer estímulo localizado, e não se propaga através do verme.

Formação do Ovo

Analise histoquímica de fêmeas mostram que as células vitelinas, além de armazenarem nutrientes para desenvolvimento do embrião, apresentam também glóbulos contendo material precursor da parede

do ovo (Smyth & Clegg, 1959; Wells & Cordingley, 1991). O processo de formação da parede do ovo parece envolver oxidação de resíduos de tirosina para formação de quinonas sob a ação do sistema enzimático fenol-oxidase. Quinonas são moléculas altamente instáveis, podendo reagir com grupos amino e sulfidrila de proteínas adjacentes, levando à formação de uma parede rígida ou uma cápsula protetora (Cordingly, 1987; Eshete & LoVerde, 1993).

Detalhes da ultra-estrutura do ovo de *S. mansoni* podem ser encontradas em Neill et al. (1988). A composição química da casca do ovo de *S. mansoni* e *S. japonicum* mostrou abundância dos aminoácidos glicina (37% para *S. mansoni* e 45% para *S. japonicum)*, ácido aspártico, lisina e serina. A casca do ovo contém de 7,5% a 10% de carboidratos, sendo glicosamina o constituinte principal (Byram & Senft, 1979).

Desenvolvimento do Macho

Aparentemente, embora o desenvolvimento do verme macho ocorra normalmente na presença ou na ausência da fêmea (Erasmus, 1987), algumas alterações fisiológicas e antigênicas já foram descritas entre machos de infecções uni e bissexuais: maior utilização de ácido aspártico em machos não acasalados (Cornford, 1985); diferenças qualitativas na resposta humoral, em infecções uni e bissexuais, à glicoproteínas de machos (Aronstein & Strand, 1984); e uma maior atividade nos machos de infecção unissexual (Shaw, 1977). Entretanto, os machos de *S. japonicum* de infecções unissexuais apresentam um crescimento menor e mais lento do que os acasalados (Severinghaus, 1928; Lee, 1932). Postulou-se que nestes casos particulares o desenvolvimento do macho pode ser controlado pelo menos em parte pela fêmea (Armstrong, 1965). Mais recentemente, Khalil & Mansour (Khalil & Mansour, 1995) descreveram uma redução significativa no peso do corpo de machos de *S. mansoni* e *S. haematobium* de infecções unissexuais, com relação a bissexuais. Este aspecto da biologia de *Schistosoma* merece reconsideração em vista dos novos resultados obtidos.

Aspectos Moleculares da Interação Macho-fêmea

A fim de esclarecer os mecanismos moleculares resultantes da interação macho-fêmea que levam ao desenvolvimento reprodutivo da fêmea, procurou-se, inicialmente, identificar genes ativos apenas no estádio reprodutivo das fêmeas. Os genes melhor caracterizados e que são expressos durante o desenvolvimento da fêmea de *S. mansoni* são os precursores das proteínas p14 e p48 da casca do ovo (LoVerde et al., 2004). Os mensageiros respectivos (mRNAs) são encontrados apenas nas fêmeas sexualmente maduras e não são encontrados nem nos machos, nem nos ovos. Nas infecções bissexuais experimentais, esses mRNA's são transcritos 28 dias após o acasalamento, atingindo o nível máximo de transcrição em 45 dias. Por conseguinte, a ativação desses genes são marcadores do acasalamento. Experimentos de hibridização *in situ* demonstram que estímulos do macho são necessários para a síntese e tradução dos mRNA's p14 e p48. Esses produtos dos genes estão associados aos grânulos proteináceos das células vitelinas que contêm os precursores da casca do ovo (Chen, Rekosh & LoVerde, 1992). Existem na literatura evidências da presença de vias de transdução de sinais envolvidas no desenvolvimento reprodutivo das fêmeas. Por exemplo, a expressão de Ras (que codifica um grupo de proteínas da superfamília da GTPases que estão envolvidas na regulação da proliferação celular em vários sistemas) está regulada em machos

e fêmeas do parasito, variando a concentração de seus componentes (Ras, MAP-kinase e GAP) de acordo com o sexo e estádio de desenvolvimento (Schussler, Grevelding & Kunz, 1997). TGFβ (fator de crescimento) e fatores relacionados, como por exemplo a activina, sinalizam por intermédio de uma família de proteínas transmembranosas identificadas como serina/treonina quinases. Existem dois tipos de receptores que atuam em conjunção com serina/treonina quinases, que são os tipos I e II. A expressão do receptor tipo I, identificada em *S. mansoni*, está aumentada após a infecção do hospedeiro (Davies, Shoemaker & Pearce, 1998). RI ativado transduz o sinal para uma família de proteínas denominadas Smads, que atuam como efetores da família de TGFβ. Através desses efetores o sinal é transferido para o núcleo, regulando a transcrição de genes específicos, em resposta à ativação de receptores. Três diferentes membros da família Smads já foram isolados em *S. mansoni.* Dois deles, SmSmads-2 e SmSmads-4 foram encontrados nas células vitelinas através de imunolocalização e hibridização *in situ* (Osman, Niles & Loverde, 2001).

Vários outros receptores que ativam quinases envolvidas na sinalização já foram identificados em *S. mansoni* e certamente influenciam o desenvolvimento e maturação do parasito (para detalhes adicionais ver a revisão de LoVerde et al. 2004).

Deve-se, ainda, mencionar que o desenvolvimento do parasito e, em especial, a sua fecundidade são também influenciados por citocinas do hospedeiro. Este aspecto, todavia, será abordado em detalhes no capítulo sobre imunologia.

REFERÊNCIAS

ANGELI, V. et al. Role of the parasite-derived prostaglandin D2 in the inhibition of epidermal Langerhans cell migration during schistosomiasis infection. *The Journal of Experimental Medicine*, 193: 1.135-1.147, 2001.

ARGIRO, L. et al. Production of Sm37-V GAPDH, a major therapeutic target in human schistosomiasis. *Biotechnology and Bioengineering*, 68: 136-141, 2000.

ARMSTRONG, J. C. Mating behavior and development of schistosomes in the mouse. *The Journal of Parasitology*, 51: 605-616, 1965.

ARMSTRONG, R. L.; WILSON, J. E. & SHOEMAKER, C. B. Purification and characterization of the hexokinase from *Schistosoma mansoni*, expressed in *Escherichia coli*. *Escherichia coli*. *Protein Expression and Purification*, 8: 374-380, 1996.

ARONSTEIN, W. S. & STRAND, M. Gender-specific and pair-dependent glycoprotein antigens of *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology*, 70: 545-557, 1984.

ATKINSON, K. A. Chromosome analysis of *Schistosoma rodhaini* (Trematoda: Schistosomatidae). *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 22: 143-147, 1980.

ATKINSON, K. H. & ATKINSON, B. G. Biochemical basis for the continuous copulation of female *Schistosoma mansoni*. *Nature*, 283: 478-479, 1980.

AURIAULT, C. et al. Proteolytic cleavage of IgG bound to the Fc receptor of *Schistosoma mansoni* schistosomula. *Parasite Immunology*, 3: 33-44, 1981.

AURIAULT, C. et al. Neutral protease activity at different development stages of *Schistosoma mansoni* in mammalian host. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 72B: 377-384, 1982.

BABA, E. H. et al. Comparison of proteolytic enzimes from cercarial extract and secretion. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 57B: 55-57, 1977.

BASCH, F. B. *Schistosomes: development, reproduction, and host relations*. New York, Oxford: Oxford University Press, 1991.

BASCH, P. F. Why do Schistosomes have separate sexes? *Parasitology Today*, 6: 160-163, 1990.

BASCH, P. F. & BASCH, N. Intergeneric reproductive stimulation and parthenogenesis in *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 89: 369-376, 1984.

BASCH, P. F. & NICOLAS, C. *Schistosoma mansoni*: pairing of male worms with artificial surrogate females. *Experimental Parasitology*, 68: 202-207, 1989.

BENTLEY, G. N. et al. ShAR1 alpha and ShAR1 beta: novel putative nicotinic acetylcholine receptor subunits from the platyhelminth blood fluke *Schistosoma*. *Gene*, 329: 27-38, 2004.

BIEBERICH, A. A. & MINCHELLA, D. J. Mitochondrial inheritance in *Schistosoma mansoni*: mitochondrial variable number tandem repeat mutation produces noise on top of the signal. *The Journal of Parasitology*, 87: 1.011-1.015, 2001.

BOGITSH, B. J. & KIRSCHNER, K. F. *Schistosoma japonicum*: ultrastructural localization of a hemoglobinase using mercury labeled pepstatin. *Experimental Parasitology*, 62(2): 211-215, 1986.

BOGITSH, B. J. et al. Gut-associated immuno-localization of the *Schistosoma mansoni* cysteine proteases. *The Journal of Parasitology*, 87: 237-241, 2001.

BRIGGS, M. H. Metabolism of steroid hormones by schistosomes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 280: 481-485, 1972.

BROUWERS, J. F. H. M. et al. The incorporation, modification and turnover of fatty acids in adult *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 88: 175-185, 1997.

BROUWERS, J. F. et al. 5-Octadecenoic acid: evidence for a novel type of fatty acid modification in schistosomes. *The Biochemical Journal*, 334: 315-319, 1998a.

BROUWERS, J. F. et al. Ether lipids and their possible physiological functions in adult *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 96: 49-58, 1998b.

BRUMPT, E. Action de hôtes définitifs sur l'évolution et sur la sélétion de sexes de certain helminthes hérbegés par eux. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 14: 542-551, 1936.

BUEDING, E. & FISHER, J. Metabolic requirements of schistosomes. *The Journal of Parasitology*, 68: 208-212, 1982.

BUEDING, E. & MACKINNON, J. A. Studies of the phosphoglucose isomerase of *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Biological Chemistry*, 215: 507-513, 1955.

BYRAM, J. E. & SENFT, A. W. Structure of the Schistosome eggshell: amino acid analysis and incorporation of labelled amino acids. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 28: 539-547, 1979.

CAMACHO, M. & AGNEW, A. Glucose uptake rates by *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium* and *S. bovis* adults using a flow in vitro culture system. *The Journal of Parasitology*, 81: 637-643, 1995a.

CAMACHO, M. & AGNEW, A. *Schistosoma*: rate of glucose import is altered by acetylcholine interaction with acetylcholine receptors and acetylcholinesterase. *Experimental Parasitology*, 81: 584-591, 1995b.

CAMPBELL, D. L. et al. *Schistosoma mansoni*: partial characterization of enzyme(s) secreted from the preacetabular glands of cercáriae. *Experimental Parasitology*, 40: 33-40, 1976.

CAPRON, A. et al. Etude *in vitro* des phenomenes immunologiques dans la schistosomiase humaine et experimentale. I. Etude comparative *in vitro* de l´activité lethales d´immunserums et sur les adultes de *Schistosoma mansoni*. *International Journal for Parasitology*, 4: 620-662, 1974.

CASTANHEIRA, E. B.; GAZZINELLI, G. & FIGUEIREDO, E. A. Activities and electrophoretic patterns of some enzymes involved in glicose metabolism of *Schistosoma mansoni* in relation to age and host origin. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 68B: 467-472, 1981.

CHAPPELL, C. L. & DRESDEN, M. H.. Purification of cysteine proteinases from adult *Schistosoma mansoni*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 256: 560-568, 1987.

CHEN, L. L.; REKOSH, D. M. & LOVERDE, P. T. *Schistosoma mansoni* p48, eggshell protein gene: characterization, developmentally regulated expression and comparison to the p14 eggshell protein gene. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 52: 39-52, 1992.

CHIANG, C. P. & CAULFIELD, J. P. Human lipoprotein binding to schistosomula of *Schistosoma mansoni. The American Journal of Pathology*, 135: 1.015-1.024, 1989.

CLEGG, J. A. & SMITHERS, S. R. Death of schistosome cercariae during penetration of slin. II. Penetration of mammalian skin by *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 58: 111-128, 1968.

CLEGG, J. A. & SMITHERS, S. R. The effects of immune Rhesus monkey serum on schistosomula of *Schistosoma mansoni* during cultivation *in vitro*. *International Journal for Parasitology*, 2: 79-98, 1972.

CLEMENS, L. E. & BASCH, P. F. *Schistosoma mansoni*: insulin independence. *Experimental Parasitology*, 68: 223-229, 1989.

CLOUGH, E. R. Morphology of reproductive organs and oogenesis in bisexual and unisexual transplants of mature *Schistosoma mansoni* females. *The Journal of Parasitology*, 67: 535-539, 1981.

COELHO, P. M. Z.; GAZZINELLI, G. & PELLEGRINO, J. *Schistosoma mansoni*: host antigen occorrence in worms recovered from laboratory vertebrate animals. *Parasitology*, 81: 349-354, 1980.

COLES, G. C. & HILL, G. C. Cytochrome C of *Schistosoma mansoni. The Journal of Parasitology*, 58: 1.046, 1972.

CONDE DEL PINO, E. et al. Studies on *Schistosoma mansoni*.II. isoenzyme patterns for alkaline phosphatase, isocitric dehydrogenase, glutamic oxalacetic transaminase and glucose 6-phosphate dehydrogenase of adult worms and cercariae. *Experimental Parasitology*, 22: 288-294, 1968.

CORDEIRO, M. N. & GAZZINELLI, G. *Schistosoma mansoni*: resolution and molecular weight estimates of tegument glycoproteins by polyacrilamide gel electrophoresis. *Experimental Parasitology*, 48: 337-344, 1979.

CORDEIRO, M. N. et al. *Schistosoma mansoni*: relationship between turnover rates of membrane proteins and susceptibility to immune damage of schistosomula. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 11: 23-36, 1984.

CORDINGLEY, J. S. Trematodes eggshells: novel protein biopolymers. *Parasitology Today*, 3: 341-344, 1987.

CORNFORD, E. M. *Schistosoma mansoni, S japonicum and S haematobium*: permeability to acidic amino acids and effect of separated and unseparated adults. *Experimental Parasitology*, 59: 355-363, 1985.

CORNFORD, E. M. Influence of mating on surface nutrient exchange in schistosomes. *Journal of Chemical Ecology*, 12: 1.777-1.796, 1986.

CORNFORD, E. M. & OLDENDORF, W. H. Transintegumental uptake of metabolic substrates in male and female *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology*, 65: 357-363, 1979.

CORNFORD, E. M. & HUOT, M. E. Glucose transfer from male to female schistosomes. *Science*, 213: 1.269-1.271, 1981.

CORNFORD, E. M. & FRITZPATRICK, A. M. The mechanism and rate of glucose transfer from male to female schistosomes. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 17: 131-142, 1985.

CORNFORD, E. M. & FITZPATRICK, A. M. Glucose-induced modulation of nutrient influx in *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology*, 78: 266-270, 1992.

CORNFORD, E. M.; DIEP, C. P. & ROWLEY, G. A. *Schistosoma mansoni, S. japonicum, S. haematobium*: glycogen content and glucose uptake in parasites from fasted and control hosts. *Experimental Parasitology*, 56: 397-408, 1983.

CORNFORD, E. M. et al. Tegumental glucose permeability in male and female *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology*, 74: 116-128, 1988.

CORT, W. W. Sex in the trematode family Schistosomatidae. *Science*, 53: 226-228, 1921.

CRAIG, S. P. et al. High level expression in Escherichia coli of soluble, enzymatically active schistosomal hypoxantine/guanine phosphoribosyltransferase and trypanosomal ornithine decarboxylase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 88: 2.500-2.504, 1991.

CUMMINGS, R. D. & NYAME, A. K. Schistosome glycoconjugates. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1.455: 363-374, 1999.

CUNHA, V. M. N.; DE SOUZA, W. & NOEL, F. A $Ca2^{+}$-stimulated, $Mg2^{+}$-dependent ATPase activity in subcellular fractions from *Schistosoma mansoni*. *Febs Letters*, 241: 65-68, 1988.

CURWEN, R. S. & WILSON, R. A. Invation of skin by schistosome cercariae: some neglected facts. *Trends in Parasitology*, 19: 63-66, 2003.

DAMONEVILLE, M. et al. Antigenic properties of Schistosoma mansoni aminopeptidases: evolution during the development in mammalian hosts. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 6: 265-275, 1982.

DAVIES, S. H.; SHOEMAKER, C. B. & PEARCE, E. J. A divergent member of the transforming growth factor beta receptor family from *Schistosoma mansoni* is expressed on the parasite surface membrane. *The Journal of Biological Chemistry*, 273: 11.234-11.240, 1998.

DEAN, D. A.; WISTAR, R. & CHEN, T. Combined *in vitro* effects of rat antibody and neutrophilic leucocytes on schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 23: 420-478, 1974.

DEN HOLLANDER, J. E. & ERASMUS, D. A. *Schistosoma mansoni*: DNA synthesis in males and females from mixed and single sex infections. *Parasitology*, 88: 463-476, 1984.

DING, J.; SU, J. G. J. & MANSOUR, T. E. Cloning and characterization of a cDNA encoding phosphofructokinase from *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 66: 105-110, 1994.

DORSEY, C. H. *Schistosoma mansoni:* description of the head gland of cercariae and schistosomules at the ultrastlrutural level. *Experimental Parasitology*, 39: 444-459, 1976.

DORSEY, C. H. & STIREWALT, M. A. *Schistosoma mansoni*: fine structure of cercarial acetabular gland. *Experimental Parasitology*, 30: 199-314, 1971.

DORSEY, C. H. et al. Ultrastructure of the *Schistosoma mansoni* cercaria. *Micron*, 33: 279-223, 2002.

DRESDEN, M. A. & ASCH, H. L. Proteolytic enzynes in extracts of *Schistosoma mansoni cercariae*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 289: 378-384, 1972.

EL-DABAA, E. et al. Cloning and characterization of *Schistosoma mansoni* fructose-1,6-bisphosphate aldolase isoenzyme. *The Journal of Parasitology*, 84: 954-960, 1998.

ELOI-SANTOS, S. et al. *Schistosoma mansoni*: mortality, pathophysiology and susceptibility differences in male and female mice. *Experimental Parasitology*, 75: 168-175, 1992.

ERASMUS, D. A. A comparative study of the reproductive system of mature, immature, and 'unisexual' female *Schistosoma*. *Parasitology*, 67: 165-183, 1973.

ERASMUS, D. A. The subcellular localization of labelled tyrosine in the vitelline cells of *Schistosoma mansoni*. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 46: 75-81, 1975.

ERASMUS, D. A. Structural and metabolic changes in female. *Schistosoma mansoni* following male stimulation. *Journal of Chemical Ecology*, 12: 1.755-1.764, 1986.

ERASMUS, D. A. The adult schistosome reproductive biology. In: ROLLINSON, D. & SIMPSON, A. J. G. (Ed.) *The Biology of Schistosomes from Genes to Latrines*. London: Academic Press, 1987.

ESHETE, F. & LoVERDE, P. T. Characteristics of phenol oxidase of *Schistosoma mansoni* and its functional implications in eggshell synthesis. *The Journal of Parasitology*, 79: 309-317, 1993.

FAN, J. et al. A *Schistosoma japonicum* very low-density lipoprotein-binding protein. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 35: 1.436-1.451, 2003.

FANTAPPIÉ, M. R. et al. Molecular characterization of a NADH ubiquinone oxidoreductase subunit 5 from *Schistosoma mansoni* and inhibition of mitochondrial respiratory chain function by testosterone. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 202: 149-158, 1999.

FAUST, E. C. Criteria for the differenciation of *Schistosoma* larvae. *The Journal of Parasitology*, 6: 192-194, 1920.

FOSTER, L. A. & BOGITSH, B. J. Utilization of the Heme moiety of hemoglobin by *Schistosoma mansoni* schistosomules *in vitro*. *The Journal of Parasitology*, 72: 669-576, 1986.

FOULK, B. W. et al. Adenylosuccinate lyase of *Schistosoma mansoni*: gene structure and mRNA expression and analysis of the predicted peptide structure of a potential chemotherapeutic target. *International Journal for Parasitology*, 32: 1.487-1.495, 2002.

FUJINO, T.; FRIED, B. & TAKAMIYA, S. Cytochemical localization of cytochrome c oxidase activity in mitochondria in the tegumental and parenchymal cells of the trematodes *Echinostoma trivolvis*,

Zygocotyle lunata, *Schistosoma mansoni*, *Fasciola gigantica* and *Paragominus ohirai*. *Journal of Helminthology*, 69: 195-201, 1995.

GAZZINELLI, G. & PELLEGRINO, J. Elastolytic activity of *Schistomoma mansoni* cercarial extract. *The Journal of Parasitology*, 50: 591-592, 1964.

GAZZINELLI, G.; MARES-GUIA, L. & PELLEGRINO, J. Reaction of the main proteolytic fraction of *Schistosoma mansoni* cercarial enzymes with synthetic substrates and inhibitors of proteolytic enzymes. *Experimental Parasitology*, 32: 21-25, 1972.

GAZZINELLI, G.; RAMALHO-PINTO, J. & PELEGRINO, J. Purification and characterization of the proteolytic activity of cercarial extract. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 18: 689-700, 1966.

GAZZINELLI, G. et al. *Schistosoma mansoni*: biochemical evidence for morphogenetic change from cercaria to schistosomule. *Experimental Parasitology*, 34: 181-188, 1973.

GOLDBERG, M.; FLESCHER, E. & LENGY, J. *Schistosoma mansoni*: partial purification and properties of ornithine-d-transaminase. *Experimental Parasitology*, 47: 333-341, 1979.

GOLDRING, O. L. et al. Host antigens and parasite antigens of murine *Schistosoma mansoni*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 71: 144-148, 1977.

GORDON, R. M. & GRIFFITHS, R. B. Observations on the means by which the cercariae of *Schsitosoma mansoni* penetrate mammalian skin, together with an account of certain morphological changes in the new penetrated larvae. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 45: 227-243, 1951.

GUPTA, B. C. & BASCH, P. F. Evidence for transfer of a glycoprotein from male to female *Schistosoma mansoni* during pairing. *The Journal of Parasitology*, 73: 674-675, 1987a.

GUPTA, B. C. & BASCH, P. F. The role of *Schistosoma mansoni* males in feeding and development of female worms. *The Journal of Parasitology*, 73: 481-486, 1987b.

HAAS, W. et al. *Schistosoma mansoni cercariae*: stimulation of acetabular gland secretion is adapted to the chemical composition of mammalian skin. *The Journal of Parasitology*, 83: 1.079-1.085, 1997.

HARN, D. A. et al. A protective monoclonal antibody specifically recognizes and alters the catalytic activity of schistosome triose-phosphate isomerase. *Journal of Immunology*, 148: 562-567, 1992.

HASEEB, M. A. *Schistosoma mansoni*: females enhance [14C]- tyrosine incorporation in males maintained in vitro. *Journal of Helminthology*, 72: 123-126, 1998.

HASEEB, M. A.; EVELAND, L. K. & FRIED, B. The uptake, localization and transfer of [4-14C] cholesterol in *Schistosoma mansoni* males and females maintained *in vitro*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 82: 421-423, 1985.

HERVE, M. et al. Pivotal roles of the parasite PGD2 synthase and the host D prostanoid receptor 1 in schistosome immune invasion. *European Journal of Immunology*, 33: 2.764-2.772, 2003.

HILL, B. et al. The enzymes of pyrimidine biosynthesis in a range of parasitic protozoa and helminthes. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 2: 123-134, 1981.

HOCKLEY, D. J. Scanning electron microscopy of *Schistosoma mansoni cercariae*. *The Journal of Parasitology*, 54: 1.241-1.243, 1968.

HOCKLEY, D. J. & MCLAREN, D. J. *Schistosoma mansoni*: changes in the outer membrane of the tegument during development from cercaria to adult worm. *International Journal for Parasitology*, 3: 13-25, 1973.

HOREMANS, A. M. C.; TIELENS, A. G. M. & VAN DEN BERGH, S. G. The reversible effect of glucose on the energy metabolism of *Schistosoma mansoni* cercariae and schistosomula. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 51: 73-80, 1992.

HORTA, M. F. M. & RAMALHO-PINTO, F. J. Role of Human Decay-accelerating Factor in the evasion of *Schistosoma mansoni* from the complement-mediated Killing *in vitro. The Journal of Experimental Medicine*, 274: 1.399-1.406, 1982.

HOWELLS, R. E. et al. *Schistosoma mansoni*: mechanism of cercarial tail loss and its significance to host penetration. *Experimental Parasitology*, 36: 373-385, 1974.

HOWELLS, R. E. et al. *Schistosoma mansoni*: tail loss in relation to permeability changes during cercariae-schistosomulum transformation. *Parasitology*, 71: 26-35, 1975.

ILTZSCH, M. H. et al. Enzymes of uridine 5'-monophosphate biosynthesis in *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 12: 153-171, 1984.

JANNOTTI-PASSOS, L. K. et al. Biparental mitochondrial DNA inheritance in the parasitic trematode *Schistosoma mansoni. The Journal of Parasitology*, 87: 79-82, 2001.

JIANG, J. et al. *Schistosoma mansoni*: the glucose transport protein SGTP4 is present in tegumental multilamellar bodies, discoid bodies and surface lipid bilayers. *Experimental Parasitology*, 82: 201-210, 1996.

JONES, A. K. et al. Molecular characterization of an acetylcholinesterase implicated in the regulation of glucose scavenging by the parasite *Schistosoma. The Faseb Journal*, 16: 441-443, 2002.

KARLSON, P. & LÜSCHER, J. Pheromones: a new term for a class of biologically active substances. *Nature*, 183: 55-56, 1959.

KHALIL, S. B. & MANSOUR, N. S. Worm development in hamsters infected with unisex and cross-mated *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium*. *The Journal of Parasitology*, 81: 8-11, 1995.

KHOO, K. H. & DELL, A. Glycoconjugates from parasitic helminths: structure diversity and immunological implications. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 491: 185-205, 2001.

KHOO, H. R. et al. Structural mapping of the glycans from egg glycoproteins of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum*: identification of novel core structures and terminal sequences. *Glicobiology*, 7: 663-677, 1997.

KUNZ, W. et al. A *Schistosoma mansoni*: control of female fertility by the male. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90: 185-189, 1995.

KUSEL, J. R. & MACKENZIE, P. E. The measurement of the relative turnover rates of proteins of surface membranes and other fractions of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 71: 261-273, 1975.

LANDESPERGUER, W. J.; STIREWALT, M. A. & DRESDEN, M. H. Purificantion and properties of proteolytic enzynes from the cercariae of the human trematode parasite of *Schistosoma mansoni*. *The Biochemical Journal*, 201: 137-144, 1982.

LE, T. H.; BLAIR, D. & MCMANUS, D. P. Mitochondrial genomes of parasitic flatworms. *Trends in Parasitology*, 18: 206-213, 2002.

LE, T. H. et al. Mitochondrial gene content, arrangement and composition compared in African and Asian schistosomes. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 117: 61-71, 2001.

LEE, C. U. Certain biological and pathological aspects of schistosomiasis japonica as studied in hamster (Cricetulus griseus). C. R. Congress International. *Medicine Tropical Hygiene*, 4: 373-386, 1932.

LEE, K. W. et al. Cloning of a gene for phosphoglycerate kinase from *Schistosoma mansoni* and characterization of its gene product. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 71: 221-231, 1995.

LEGAY, J. M. Effects of temperature on the morphogenesis of ovocytes of Bombyx mori L C. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences. Série D*, 282(13): 1.313-1.316, 1976.

LEVY, M. G. & READ, C. P. Purine and pyrimidine transport in *Schistosoma mansoni. The Journal of Parasitology*, 61: 627-632, 1975.

LEWERT, R. M. & LEE, C. L. Studies on the passage of helminth larvae through host tissue – I. Histochemical studies on the extracellular changes caused by penetrate larvae. II. Enzymatic activity of larvae *in vivo* and *in vitro*. *Journal of Infectious Diseases*, 95: 13-51, 1954.

LEWERT, R. M. & LEE, C. L. Quantitative studies of the collagenase-like enzymes of cercariae of *Schistosoma mansoni* and the larvae of Strogyloides ratti. *Journal of Infectious Diseases*, 99: 1-14, 1956.

LOEFFLER, I. K. & BENNETT, J. L. A rab-related GTP-binding protein in *Schistosoma mansoni. Molecular and Biochemical Parasitology*, 77: 31-40, 1996.

LOVERDE, P. T. et al. *Schistosoma mansoni* male-female interactions. *Canadian Journal of Zoology*, 82: 357-374, 2004.

MACHADO, A. J. et al. *Schistosoma mansoni*: the role of the complement C3-activating system in the cercaricidal action of normal serum. *Experimental Parasitology*, 38: 20-27, 1975.

MALDONADO, J. F. & HERRERA, F. V. *Schistosoma mansoni* infection resulting from exposure to cercariae proceeding from single naturally infected snails Puerto Rico. *The International Electronic Journal of Health Education*, 25: 230-241, 1949.

MASTROBERARDINO, L. et al. Amino-acid transport by heterodimers of 4F2hc/CD98 and members of a permease family. *Nature*, 395: 288-291, 1998.

MCKERROW, J. H. & DOENHOFF, M. Schistosome proteases. *Parasitology Today*, 4: 334-340, 1988.

MCKERROW, J. H. & SATTER, J. Invasion of skin by *Schistosoma cercariae*. *Trends in Parasitology*, 18: 193-195, 2002.

MCKERROW, J. H. et al. Proteinases from invasive larvae of the trematode parasite *Schistosome mansoni* degrade connective-tissue and basement-membrane macromolecules. *The Biochemical Journal*, 231: 47-51, 1985.

MCKERROW, J. J. Invasion of skin by schistosome cercariae: some neglected facts. *Trends in Parasitology*, 19: 55-58, 2003.

MEDOF, M. E.; KINOSHITA, T. & NUSSENZWEIG, V. Inhibition of complement activation on the surface of cells after incorporation of decay-accelerating factor (DAF) into their membranes. *The Journal of Experimental Medicine*, 160: 1.558-1.578, 1984.

MEYER, F.; MEYER, H. & BUEDING, E. Lipid metabolism in the parasitic and free-living flat worms *Schistosoma mansoni* and *Dugesia dorotocephala*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 21: 257-266, 1970.

MICHAEL, S. R. M. Mating of *Schistosoma mansoni in vitro. Experimental Parasitology*, 25: 58-71, 1969.

MILLEMAN, N. E. R. & THORNARD, J. C. Protease activity in *Schistosoma* cercariae. *Experimental Parasitology*, 8: 129-136, 1959.

MOORE, D. V.; YOLLES, T. K. & MELENEY, H. E. The relationship of mature worms to the sexual development of female *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology*, 40: 166-185, 1954.

MURREL, K. D. & CLAY, B. *In vitro* detection of cytotoxic antibodies to *Schistosoma mansoni* schistosomules. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*; 2: 569-577, 1972.

MURREL, K. D. et al. *Schistosoma mansoni*: analysis of surface membrane carbohydrates using lectins. *Experimental Parasitology*, 46: 247-255, 1978.

NAGAI, Y. et al. Protein synthesis during cercaria-schistosomulum transformation and early development of *Schistosoma mansoni* larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology – Part B*, 57: 27-30, 1977.

NAKAZAWA, M. et al. *Schistosoma mansoni*: susceptibility differences between male and female mice can be mediated by testosterone during early infection. *Experimental Parasitology*, 85: 233-240, 1997.

NAVARRO, M. C.; CESARI, I. M. & INCANI, R. N. Isoenzyme studies in one Brazilian and two Venezuelan strains of *Schistosoma mansoni*. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, 102: 471-474, 1992.

NEILL, P. J. et al. The ultrastructure of the *Schistosoma mansoni* egg. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 39(1): 52-65, 1988.

NIRDÉ, P. et al. Ecdysone and 20-hydroxyecdysone New hormones for the human parasite *Schistosoma mansoni*. *Febs Letters*, 151: 223-227, 1983.

OLIVEIRA, C. C. et al. Biochemical changes in the transformation of *Schistosoma mansoni* cercariae to schistosomules. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 15B: 417-420, 1975.

OLIVEIRA, G. C. et al. Genome and genomics of schistosomes. *Canadian Journal of Zoology*, 82: 377-390, 2004.

OSMAN, A.; NILES, E. G. & LOVERDE, P. T. Identification and characterization of a Smad2 homologue from *Schistosoma mansoni*, a transforming growth factor-beta signal transducer. *The Journal of Biological Chemistry*, 276: 10.072-10.082, 2001.

OSMAN, A.; NILES, E. G. & LOVERDE, P. T. Expression of functional *Schistosoma mansoni* Smad4: role in ERK-mediated transforming growth factor-beta (TGF-beta) down regulation. *The Journal of Biological Chemistry*, 279: 6.474-6.486, 2004.

PEREIRA, C. et al. Alterations in cytochrome-c oxidase expression between praziquantel-resistant and susceptible strains of *Schistosoma mansoni. Parasitology*, 117: 63-73, 1998.

PESSÔA, S. B. *Parasitologia Médica*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1963.

PFEIFFER, R. et al. Functional heterodimeric aminoacid transporters lacking cysteine residues involved in disulfide bond. *Febs Letters*, 439: 157-162, 1998.

PIJKEREN, T. A. VAN; TAVARES, C. A. P. & GAZZINELLI, G. *Schistosoma mansoni*: ability of Con A to protect in vitro mechanically transformed schistosomula against the lethal effect of immune serum plus complement. *Parasitology*, 84: 239-252, 1982.

PINTO, C. & ALMEIDA, F. A. Penetração das cercarias do *Schistosoma mansoni* na pele de *Canis familiaris* e do homem. *Revista Brasileira de Biologia*, 5: 219-229, 1945.

POPIEL, I. Male-stimulated female maturation in *Schistosoma*: a review. *Journal of Chemical Ecology*, 12: 1.745-1.754, 1986.

POPIEL, I. & BASCH, P. F. Putative polypeptide transfer from male to female *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 11: 179-188, 1984a.

POPIEL, I. & BASCH, P. F. Reproductive development of female *Schistosoma mansoni* (Digenea: Schistosomatidae) following bisexual pairing of worms and worms segments. *The Journal of Experimental Zoology*, 232: 141-150, 1984b.

POPIEL, I. & BASCH, P. F. *Schistosoma mansoni*: cholesterol uptake by paired and unpaired worms. *Experimental Parasitology*, 61: 343-347, 1986.

POPIEL, I. & ERASMUS, D. A. *Schistosoma mansoni*: changes in the rate of tyrosine uptake by unisexual females after stimulation by males and males extracts. *Journal of Helminthology*, 55: 33-37, 1981.

POPIEL, I. & ERASMUS, D. A. *Schistosoma mansoni*: the survival and reproductive status of mature infections in mice treated with oxamniquine. *Journal of Helminthology*, 56: 257-262, 1982.

RAMALHO-PINTO, F. J. et al. *Schistosoma mansoni*: defined system for stepwise transformation of cercarie to schistosomule *in vitro*. *Experimental Parasitology*, 36: 360-372, 1974.

RAMALHO-PINTO, F. J. et al. Factors affecting surface changes in intact cercáriae and cercárial bodies of *Schistosoma mansoni. Parasitology*, 71: 19-25, 1975.

RAMASWAMY, K.; KUMAR, P. & HE, Y. X. A role for parasite-induced PGE2 in IL-10-mediated host immunoregulation by skin stage schistosomula of *Schistosoma mansoni. Journal of Immunology*, 165: 4.567-4.574, 2000.

REDMAN, C. A. Interconversion of sphingomielyn and ceramide in adult *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 90: 145-153, 1997.

REY, L. *Bases da Parasitologia Médica*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992.

RIBEIRO DE JESUS, A. et al. Human Immune responses to *Schistosoma mansoni* vaccine candidate antigens. *Infection and Immunity*, 68: 2.797-2.803, 2000.

RIBEIRO-PAES, J. T. & RODRIGUES, V. Sex determination and female reproductive development in the genus *Schistosoma*: a review. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 39(6): 337-344, 1997.

ROBINSON, D. L. H. Egg-laying by *Schistosoma mansoni in vitro. Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 54: 112-117, 1960.

ROGERS, M. V. et al. Purification of a putative lipoprotein receptor from *Schistosoma japonicum* adult worms. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 41: 93-100, 1990.

ROTMANS, J. P. *Schistosoma mansoni*: purification and characterization of malate dehydrogenases. *Experimental Parasitology*, 46: 31-48, 1978.

RUMJANEK, F. D. Biochemistry and Physiology. In: ROLLINSON, D. & SIMPSON, A. J. G. (Eds.) *The Biology of Schistosomes: from genes to latrines*. Londres: Academic Press, 1987.

RUMJANEK, F. D. & CESARI, I. M. The effect of indomethacin on lipid metabolism of *Schistosoma mansoni. Biochemical Pharmacology*, 30: 3.337-3.340, 1981.

RUMJANEK, F. D. & CURIEL, M. The occurrence of proteolipid antigens in *Schistosoma mansoni. Molecular and Biochemical Parasitology*, 7: 183-195, 1983.

RUMJANEK, F. D. & MCLAREN, D. J. *Schistosoma mansoni*: modulation of schistosomular lipid composition by serum. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 3: 239-252, 1981.

RUMJANEK, F. D. & SIMPSON, A. J. G. The incorporation and utilization of radiolabelled lipids by adult *Schistosoma mansoni in vitro*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 1: 31-44, 1980.

RUMJANEK, F. D. & SMITHERS, S. R. Mannosyl transferase acytivity in homogenates of adult *Schistosoma mansoni. Parasitology*, 77: 75-86, 1978.

RUMJANEK, F. D.; BROOMFIELD, K. E. & SMITHERS, S. R. *Schistosoma mansoni*: glycosyl transferase activity and the carbohydrate composition of the tegument. *Experimental Parasitology*, 47: 24-35, 1979.

RUMJANEK, F. D.; CAMPOS, E. G. & CROCCO-AFONSO, L. C. Evidence for the occurrence of LDL receptors in extracts of schistosomula of *Schistosoma mansoni. Molecular and Biochemical Parasitology*, 28: 145-152, 1988.

RUMJANEK, F. D.; MCLAREN, D. J. & SMITHERS, S. R. Serum-induced expression of a surface protein in schistosomula of *Schistosoma mansoni*: a possible receptor for lipid uptake. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 9: 337-350, 1983.

SAEED, H. et al. Evidence for the presence of active cytochrome P450 systems in *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium* adult worms. *Febs Letters*, 519: 205-209, 2002.

SAGAWA, E.; OGI, K. & SUMIKOSHI, Y. Study concerning the influence of sex on the growth of animal bodies: 1st report Experiment of *Schistosoma japonicum*. *Transaction of the Japanese Pathology Society*, 18: 494-500, 1928.

SALTER, J. P. Cercarial elastase is encoded by a functionally conserved gene family across multiple especies of schistosomes. *The Journal of Biological Chemistry*, 277: 24.618-24.624, 2002.

SAUER, M. C. & SENFT, A. W. Properties of a proteolytic enzyme from *Schistosoma mansoni. Comparative Biochemistry and Physiology,* 42B: 204-220, 1972.

SAUMA, S. Y. & STRAND, M. Identification and characterization of glycosylphosphatidylinositol-linked *Schistosoma mansoni* adult worm immunogens. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 38: 199-209, 1990.

SCHILLER, E. L. et al. Aerobic and anaerobic carbohydrate metabolism and egg production of *Schistosoma mansoni in vitro*. *Parasitology*, 61: 385-389, 1975.

SCHNEIDER, W. J. Et al. Purification of a low-density lipoprotein receptor, an acidic glycoprotein of 164 000 molecular weight. *The Journal of Biological Chemistry*, 257: 2.664-2.673, 1972.

SCHUSSLER, P.; GREVELDING, C. G. & KUNZ, W. Identification of Ras, MAP kinase, and a GAP protein in *Schistosoma mansoni* by immunoblotting and their putative involvement in male-female interaction. *Molecular Reproduction and Development*, 41: 325-330, 1997.

SENE, M. et al. Comparison of human and murine isolates of *Schistosoma mansoni* from Richard-Toll, Senegal, by isoelectric focusing. *Journal of Helminthology*, 71: 175-181, 1997.

SEVERINGHAUS, A. E. Sex studies on *Schistosoma japonicum. The Quarterly Journal of Microscopical Science*, 71: 653-707, 1928.

SHAW, J. R. *Schistosoma mansoni*: pairing *in vitro* an development of females from single sex infections. *Experimental Parasitology*, 41: 54-65, 1977.

SHAW, J. R. Elemental changes during sexual maturation in *Schistosoma mansoni. Journal of Chemical Ecology*, 12: 1.765-1.775, 1986.

SHAW, M. K. & ERASMUS, D. A. *Schistosoma mansoni*: changes in elemental composition in relation to the age and sexual status of the worm. *Parasitology*, 86: 439-453, 1983.

SHORT, R. B. Sex studies on *Schistosomatium douthitti* (Cort 1914) Price, 1931 (Trematoda: Schistosomatidae). *American Midland Naturalist*, 47: 1-54, 1952.

SHORT, R. B. Chromosome and sex in *Schistosomatium douthitti*. *The Journal of Heredity*, 48: 2-6, 1957.

SHORT, R. B. Sex and the single *Schistosoma*. *The Journal of Parasitology*, 66: 4-22, 1983.

SIMPSON, A. J. G. & SMITHERS, S. R. Characterization of the exposed carbohydrates on the surface membranes of adult *Schistosoma mansoni* by analysis of lectin binding. *Parasitology*, 81: 1-15, 1980.

SIMPSON, A. J. G. et al. Glycosyl transferase activities are associated with the surface membrane in adult *Schistosoma mansoni. Molecular and Biochemical Parasitology*, 4: 107-115, 1981.

SKELLY, P. J. & SHOEMAKER, C. B. Rapid appearance and asymmetric distribution of glucose transporters SGTP4 at the apical surface of intramammalian stage *Schistosoma mansoni*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 93: 3.642-3.646, 1996.

SKELLY, P. J. & SHOEMAKER, C. B. Induction cues for tegumental formation during the transformation of *Schistosoma mansoni* cercariae. *International Journal for Parasitology*, 30: 625-631, 2000.

SKELLY, P. J. et al. Expression of *Schistosoma mansoni* genes involved in anaerobic and oxidative glucose metabolism during cercarie to adult transformation. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 60: 93-104, 1993.

SKELLY, P. J. et al. Cloning, characterization and functional expression of cDNA encoding glucose transporter proteins from the human parasite *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Biological Chemistry*, 269: 4.247-4.253, 1994.

SKUCE, P. J. et al. Immunoreactivity to the pancreatic polypeptide family in the nervous system of the adult human blood fluke *Schistosoma mansoni. Cell and Tissue Research*, 261: 573-581, 1990.

SMITH, T. M. & BROWN, J. N. Tricarboxylic acid cycle enzyme activities in adult *Schistosoma mansoni and Schistosoma japonicum. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 71: 329-330, 1977.

SMITHERS, S. R.; ROODWIN, D. B. & WILSON, R. J. Biochemical and morphological characteristics of subcellular fractions of male *Schistosoma mansoni*. *Experimental Parasitology*, 16: 195-206, 1965.

SMITHERS, S. R.; TERRY, R. J. & HOCKLEY, D. J. Host antigens in schistosomiasis. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B*, 171: 483-494, 1969.

SMYTH, J. D. & CLEGG, J. A. Egg-shell formation in Trematodes and Cestodes. *Experimental Parasitology*, 8: 286-323, 1959.

STIREWALT, M. A. *Schistosoma mansosi*: cercaria to schistosomule. *Advances in Parasitology*, 12: 115-182, 1974.

STIREWALT, M. A. & KRUIDENIER, F. J. Activity of the acetabular secretory apparatus of cercariae of *Schistosoma mansoni* under experimental conditions. *Experimental Parasitology*, 11: 191-211, 1961.

SU, J. G. J.; MANSOUR, J. M. & MANSOUR, T. E. Purification, kinetics and inhibition by antiminials of recombinant phosphofructokinase from *Schistosoma mansoni. Molecular and Biochemical Parasitology*, 81: 171-178, 1996.

SUNG, C. K. & DRESDEN, M. H. Cysteinyl proteinases of *Schistosoma mansoni* eggs: purification and partial characterization. *The Journal of Parasitology*; 72: 891-900, 1986.

TAVARES, C. A. P. et al. *Schistosoma mansoni*: evidence for a role of serum factors in protecting artificially transformed schistosomula against antibody-mediated killing in vitro. *Parasitology*, 77: 225-233, 1978.

TAYLOR, M. G. Further observations on the sexual maturation of female schistosomes in single sex infections. *Journal of Helminthology*, 45: 89-92, 1971.

TAYLOR, M. G.; AMIN, M. B. A. & NELSON, G. S. Parthenogenesis in *Schistosoma matheei. Journal of Helminthology*, 43: 197-206, 1969.

TEMPONE, A. J.; BIANCONI, M. L. & RUMJANEK, F. D. The interaction of human LDL with the tegument of adult *Schistosoma mansoni. Molecular and Cellular Biochemistry*, 177: 139-144, 1997.

TEMPONE, A. J. et al. Dolichol phosphate mannose synthase is differentially expressed in male and female worms of *Schistosoma mansoni. Comparative Biochemistry and Physiology B*, 131: 465-474, 2002.

THOMPSON, D. P. et al. Changes in glucose metabolism and cyanide sensitivity in *Schistosoma mansoni* during development. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 13: 39-51, 1984.

TIELENS, G. M. A.; VAN DEN HEUVEL, J. M. & VAN DEN BERGH, S. G. Substrate cycling between glucose 6-phosphate and glycogen occurs in *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 39: 109-116, 1990a.

TIELENS, G. M. A.; VAN DEN HEUVEL, J. M. & VAN DEN BERGH, S. G. Continuous synthesis of glycogen by individual worm pairs of *Schistosoma mansoni* inside the veins of the final host. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 39: 195-202, 1990b.

TIELENS, A. G. et al. The enigmatic presence of all gluconeogenic enzymes in *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 102(2): 267-276, 1991a.

TIELENS, A. G. M. et al. The aerobic energy metabolism of *Schistosoma mansoni* miracidia. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 46: 181-184, 1991b.

TIELENS, A. G. M. et al. The facultative anaerobic energy metabolism of *Schistosoma mansoni* sporocysts. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 56: 49-58, 1992.

TIELENS, A. G. M. et al. The 50-kDa glucose 6-phosphate-sensitive hexokinase of *Schistosoma mansoni. The Journal of Biological Chemistry*, 269: 24.736-24.741, 1994.

TORPIER, G. et al. Detection of ecdysteroids in the human trematode *Schistosoma mansoni. Parasitology*, 84: 123-130, 1982.

TROTTEIN, F. et al. Molecular cloning of a putative alpha3-fucosyltransferase from *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 107: 279-287, 2000.

TZENG, S. et al. Degradation of purified skin keratin by proteinase secreted from *Schistosoma mansoni cercariae*. *The Journal of Parasitology*, 69: 992-994, 1983.

VAN HELLEMOND, J. J.; VAN REMOORTERE, A. & TIELENS, A. G. *Schistosoma mansoni* sporocysts contain rhodoquinone and produce succinate by fumarate reduction. *Parasitology*, 115: 177-182, 1997.

VAN OORDT, B. E. P. et al. The energy production of adult *Schistosoma mansoni* is for a large part aerobic. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 16: 117-126, 1985.

VERJOVSKI-ALMEIDA, S. et al. Transcriptome analysis of the acoelomate human parasite *Schistosoma mansoni*. *Nature Genetics*, 35: 148-157, 2003.

VOGEL, H. Ueber den Einfluss des Geschlechtspartners auf Wachstum und Entwicklung bei Bilharzia mansoni und bei Kreuzpaarungen zwischen verschiedenen Bilharzia-Arten. *Zentralblalt fur Bakteriologie Parasitenkunde I. Abt. Orig*, 148: 178–196, 1941.

VON KRUGER, W. M. et al. Oxygen uptake and lactate production by *Schistosoma mansoni* cercaria, cercarial body and tail, and schistosomule. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, 60(1): 41-46, 1978.

WAINE, G. J. et al. Cloning, molecular characterization and functional activity of *Schistosoma japonicum* glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase, a putative vaccine candidate against schistosomiasis japonica. *Infection and Immunity*, 61: 4.716-4.723, 1993.

WELLS, K. & CORDINGLEY, J. S. *Schistosoma mansoni*: eggshell formation is regulated by pH and calcium. *Experimental Parasitology*, 73: 295-310, 1991.

WIEST, P. M. et al. Characterization of [^{3}H] palmitate and [^{3}H] ethanolamine-labelled proteins in the multicellular parasitic trematode *Schistosoma mansoni. The Biochemical Journal*, 254: 419-426, 1988.

WILSON, A. R. Cercariae to liver worms: development and migration in the mammalian host. In: ROLLINSON, D. & SIMPSON, A. J. G. (Eds.) *The Biology of Schistosomes: from genes to latrines*. London: Academic Press, 1987.

WILSON, R. A. & BARNES, P. E. The formation and turnover of the membranocalyx on the tegument of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 74: 61-71, 1977.

XU, Y. Z. & DRESDEN, N. H. Leucine aminopeptidase and hatching of *Schistosoma mansoni* eggs. *The Journal of Parasitology*, 72: 507-511, 1986.

XU, X. & CAULFIELD, J. P. Characterization of human low density binding proteins on the surface of schistosomula of *Schistosoma mansoni. European Journal of Cell Biology*, 57: 229-232, 1992.

YANG, W. et al. Multi-epitope schistosome vaccine candidates tested for protective immunogenicity in mice. *Vaccine*, 19: 103-113, 2000.

6 Sistema Neuromuscular e Controle da Motilidade no Verme Adulto

François Noël

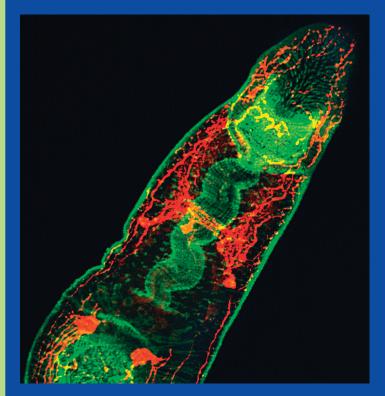



Imagem de *Schistosoma mansoni* fêmea obtida por microscopia confocal e dupla marcação neuromuscular. Em vermelho: nervos anticorpo contra neuropeptídeos GYFIRamida de platelminto, marcado com rodamina). Em verde: músculos (faloidina marcada com FITC).

Fonte: Mair et al. (1998). Reproduzida da *Parasitology Today*, 14(2): 73-76, copyright (1998), com permissão da Elsevier.

Há reconhecida necessidade de se desenvolver novos fármacos esquistossomicidas para oferecer alternativa ao único fármaco disponível atualmente (praziquantel), para o qual se teima aparecimento de resistência. Como o sistema neuromuscular já demonstrou ser uma fonte fértil em alvos para fármacos anti-helmínticos, há necessidade de conhecer mais profundamente a fisiologia da neurotransmissão e contração no *Schistosoma mansoni*. Neste parasito, assim como nos platelmintos de forma geral, existiria um sistema de comunicação rápida envolvendo moléculas de pequeno peso molecular (aminas biogênicas, acetilcolina e aminoácidos) e um sistema mais lento, evolutivamente mais primitivo, que usa peptídeos como mensageiros. Quanto ao controle da homeostasia do cálcio, segundo mensageiro-chave no processo de contração muscular, ele é qualitativamente similar ao dos mamíferos, o que não deixa de surpreender, tendo em vista a enorme distância filogenética entre platelmintos e vertebrados atuais.

Assim, o objetivo principal deste capítulo é rever as informações disponíveis quanto ao sistema neuromuscular do *S. mansoni*, já que a estratégia de desenho molecular de moléculas candidatos à fármacos fundamenta-se no prévio conhecimento do processo fisiopatológico e na conseqüente eleição do alvo terapêutico mais adequado. Nossa abordagem enfoca o controle da atividade neuromotora do verme adulto, com ênfase na metodologia e no raciocínio próprios à farmacologia.

SISTEMA NERVOSO DE *Schistosoma mansoni*

Filogeneticamente, os platelmintos são importantes por serem os mais primitivos dos animais a possuir um sistema nervoso central e uma simetria bilateral, sendo considerados um elo entre os invertebrados inferiores e superiores (Pax & Bennett, 1992; Halton & Gustafsson, 1996). Certos autores remetem a existência dos platelmintos à origem ou a um período próximo ao da origem dos animais multicelulares (metazoários), de tal forma que estudos sobre a neurobiologia de platelmintos atuais podem fornecer informações valiosas quanto à origem evolucionária do sistema nervoso e sua relação com o sistema muscular (Halton & Gustafsson, 1996; Hanson, 1972).

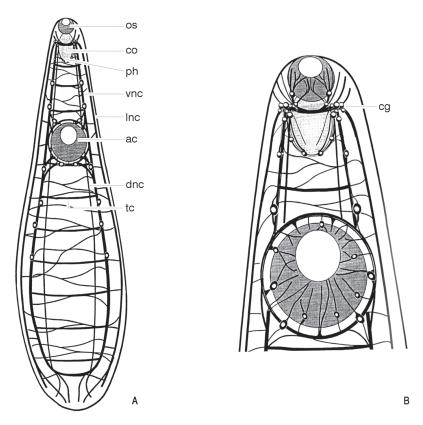
Apesar das dificuldades, em parte relacionadas com o pequeno tamanho do verme e das suas células, tem-se hoje uma boa visão da anatomia geral do sistema nervoso de *S. mansoni*. Isto se deve principalmente aos bons resultados obtidos com a técnica de localização imunoistoquímica, inicialmente empregada para marcação de acetilcolinesterase e posteriormente para aminas biogênicas, peptídeos e aminoácidos (Pax & Bennett, 1992); vide, adiante, seção intitulada Neurotransmissores Envolvidos no Controle da Atividade Motora). A combinação desta técnica com a microscopia confocal (*confocal scanning laser microscopy*) permite atingir um grau de detalhamento ainda maior quanto aos circuitos neuronais.

De forma geral, o sistema nervoso dos platelmintos é formado por um par de gânglios cerebrais e nervos longitudinais conectados por comissuras, além de um arranjo periférico de plexos nervosos sensoriais e motores (Figura 1A). Os gânglios cerebrais situam-se dos dois lados da faringe (Figura 1B), no terço anterior do animal, logo depois da ventosa oral, de onde partem os troncos nervosos anteriores e posteriores. Os troncos anteriores inervam a ventosa oral, a faringe e certas partes da musculatura corporal. Na porção posterior, há três troncos principais (dorsais, ventrais e laterais) que atravessam longitudinalmente o verme e que, por sua vez, são unidos por comissuras transversais, fazendo com que esta estrutura inteira assemelhe-se a uma escada (Figura 1A). Além destes troncos nervosos principais, mais fáceis de serem identificados, existe uma rede periférica de plexos nervosos sensoriais e motores altamente ramificados, como os submusculares, por exemplo (Pax & Bennett, 1992; Halton & Gustafsson, 1996). As ventosas oral e ventral de *S. mansoni* são ricamente inervadas por nervos serotoninérgicos e peptidérgicos que emanam do tronco nervoso ventral e se ramificam em plexos de fibras finas entrelaçadas com as fibras musculares (Marks et al., 1995), como se pode observar na Figura 1B.

Certos autores distinguem um sistema nervoso central (SNC), formado pelos gânglios e troncos nervosos principais, e um sistema nervoso periférico (SNP), formado por troncos nervosos auxiliares e pelos plexos nervosos subtegumental, submuscular, digestivo e genital. Em contraste com o sistema nervoso periférico de invertebrados superiores, há uma abundância de corpos celulares ao longo dos troncos nervosos, tal como nos plexos nervosos dos platelmintos. Assim, a maior parte do sistema nervoso dos platelmintos, de forma geral, é composta por vários pequenos neurônios, havendo numerosos interneurônios entre os gânglios cerebrais e as partes mais periféricas do sistema nervoso (Pax & Bennett, 1992).

Considera-se que os gânglios cerebrais formam um 'verdadeiro cérebro', porque eles inibem e controlam os reflexos da rede nervosa periférica (Halton & Gustafsson, 1996). Cada par de gânglios consiste de um amálgama fibrilar de axônios e dendritos, densamente entrelaçados e freqüentemente acoplados por contatos sinápticos e junções comunicantes (*gap junctions*), rodeado por uma casca de corpos celulares neuronais pouco compactados. Os pares de gânglios são conectados por uma ou mais comissuras, predominantemente

fibrosas, em forma de anel (Halton & Gustafsson, 1996). Somente nos gânglios encontram-se células unipolares, evolutivamente mais avançadas, enquanto as células multipolares e bipolares, mais primitivas, são encontradas tanto no SNC quanto no SNP.

Figuras 1A e 1B – Esquema geral do sistema nervoso de trematódeos

ac: acetábulo (ventosa ventral); cg: gânglio cerebral; co: comissura; dnc: tronco nervoso dorsal; lnc: tronco nervoso lateral; os: ventosa oral; ph: faringe; smp: plexo submuscular; vnc: tronco nervoso ventral; tc: conexão transversal. Nota-se que *S. mansoni* tem a particularidade de não possuir faringe, já que o esôfago está diretamente ligado à boca, que se abre no meio da ventosa oral.

Fonte: Halton & Gustafsson (1996).

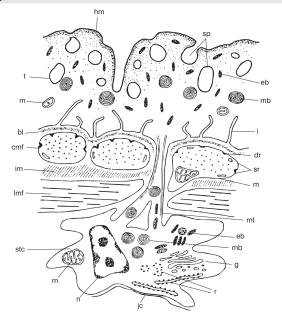
Uma matriz extracelular de fino material intersticial fibroso, que se ramifica entre vários tipos celulares e ao redor de órgãos, serve de apoio e isolamento para os neurônios. Outrossim, células não neuronais morfologicamente parecidas com células gliais de invertebrados poderiam também exercer um papel de suporte e isolamento dos neurônios, além de participar do metabolismo neuronal, com transporte e troca de substâncias (Halton & Gustafsson, 1996).

Os neurônios dos platelmintos são altamente secretórios e contém um grande número de vesículas intracelulares tanto no corpo celular quanto nos seus prolongamentos (Pax & Bennett, 1991). O conteúdo destas vesículas, de morfologia heterogênea, pode ser liberado em sinapses clássicas ou via secreção parácrina nos espaços extracelulares, perto de células-alvo (Halton & Gustafsson, 1996). Assim, o sistema nervoso dos platelmintos funcionaria não só como um sistema nervoso *per se*, mas também como um sistema parácrina, por liberar substâncias moduladoras no espaço extracelular próximo de células ou

órgãos-alvo. É importante lembrar que uma sinalização a longa distância, através da liberação de neuro-hormônios num sistema circulatório, não é possível para o *Schistosoma* (Pax & Bennett, 1992).

SISTEMA MUSCULAR DE *S. mansoni*

Entre o tegumento e as células subtegumentares, encontra-se uma região de musculatura lisa, tipicamente organizada em camadas circulares e longitudinais, com algumas fibras adicionais radialmente dispostas, particularmente no verme macho (Figura 2). Esta musculatura apresenta semelhanças morfológicas com o músculo liso de animais superiores, como por exemplo um retículo endoplasmático relativamente pouco denso (Silk & Spence, 1969), apesar de funcionalmente ativo e capaz de estocar uma quantidade de cálcio suficiente para sustentar a contração do músculo (ver, adiante, a seção Controle da Homeostasia do Cálcio). Experimentos de contração mostraram que a musculatura de *S. mansoni* é também similar ao músculo liso de mamíferos quando analisados seus aspectos funcionais (Fetterer et al., 1978). É importante ressaltar a existência de diferenças fisiológicas e farmacológicas importantes entre os músculos longitudinais e circulares do corpo do verme adulto macho (Pax, Siefker & Bennett, 1984). A musculatura longitudinal seria importante para a motilidade do verme (ver, adiante, a seção Modelos Experimentais para Avaliação da Atividade Motora do Verme Adulto), ao passo que a musculatura circular teria como função principal a manutenção do diâmetro do canal ginecofórico e, portanto, o pareamento do casal de vermes.

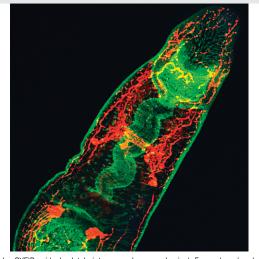
Figura 2 – Diagrama ilustrando a conexão do tegumento (T) à célula subtegumentar (SC) e às camadas musculares circulares e longitudinais

Fibras musculares : camada circular externa (cmf) e camada longitudinal mais interna (lmf).

Fonte: Hockley (1973).

Mais recentemente, usando microscópio confocal e um marcador muscular fluorescente (faloidina), Mair et al. (2000) foram capazes de descrever detalhadamente a morfologia da musculatura do verme

adulto incluindo a organização das fibras musculares na parede do corpo e nas ventosas. No corpo, as fibras circulares são delgadas e intercaladas entre espinhas que são freqüentes, sobretudo na parte dorsal do verme macho (Figura 2). As fibras longitudinais, localizadas logo abaixo das circulares, são duas vezes mais espessas e apresentam uma morfologia diferente, do tipo fusiforme (*spindle fibre*). Estas fibras constituem uma camada muscular compacta de fibras intimamente empacotadas. Debaixo desta camada muscular, encontram-se poucas fibras diagonais que, ao contrário das demais, não formam uma camada muscular compacta. A musculatura corporal bem desenvolvida do verme macho, assim como os espinhos que revestem sua superfície, principalmente na porção posterior à ventosa ventral, facilitam sua locomoção no interior das veias, mesmo em sentido contrário ao da corrente sanguínea. Assim, o macho consegue alcançar os diminutos ramos venosos, permitindo à fêmea, carregada no canal ginecóforo, fazer suas posturas nos lugares mais convenientes (Rey, 2002). Fibras musculares com semelhante organização foram também encontradas nas ventosas ventral e oral (Mair et al., 2000).

Do ponto de vista ultra-estrutural, estudos de microscopia eletrônica indicaram que as fibras musculares são constituídas de miofilamentos delgados e espessos, organizados irregularmente, estando cada filamento espesso rodeado por oito a 14 filamentos delgados (Silk & Spence, 1969). O uso de microscopia confocal e de dupla marcação com anticorpos antifaloidina (marcador de fibras musculares) e anticorpos antineurotransmissor (marcador neuronal) permitiu revelar detalhes até então desconhecidos da inervação dos diferentes órgãos e da relação nervo-músculo (Mair et al., 1998, 2000). Assim, pode-se verificar que fibras nervosas serotoninérgicas (mas não peptidérgicas) formam um plexo nervoso submuscular extenso que se estende ao longo do corpo do verme adulto. As ventosas oral e ventral de *S. mansoni* são também ricamente inervadas por fibras serotoninérgicas e peptidérgicas (Figura 3) que emanam dos gânglios cerebrais através do tronco nervoso anterior e se ramificam em plexos de fibras finas entrelaçadas com as fibras musculares (Marks et al., 1995; Mair, 1998). Recentes evidências indicam uma inervação semelhante das ventosas por fibras GABAérgicas (ver, adiante, a subseção Neuropeptídeos, inserida na seção Neurotransmissores Envolvidos no Controle da Atividade Motora)

Figura 3 – Imagem de *Schistosoma mansoni* fêmea obtida por microscopia confocal e dupla marcação neuromuscular

Em vermelho: nervos (anticorpo contra neuropeptídeo GYFIRamida de platelminto, marcado com rodamina). Em verde: músculos (faloidina marcada com FITC).

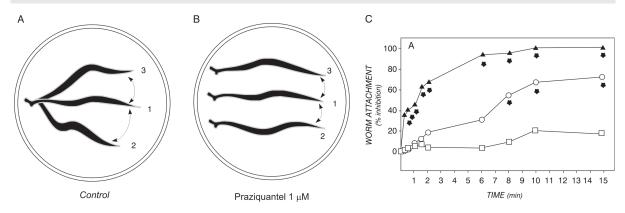
Fonte: Mair et al. (1998). Reproduzida da *Parasitology Today*, 14(2): 73-76, copyright (1998), com permissão da Elsevier.

MODELOS EXPERIMENTAIS PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MOTORA DO VERME ADULTO

A observação do comportamento de *S. mansoni in situ* é difícil, o que torna praticamente imprescindível seu isolamento fora do habitat natural para estudos *in vitro*. Infelizmente, o impacto de tais procedimentos sobre o comportamento e a fisiologia do verme é desconhecido, havendo indícios de modificações morfológicas após várias horas de incubação, para o que depende fortemente o meio utilizado (Carlisle, Weisberg & Bentley, 1983).

Os vermes adultos machos em solução salina apresentam uma variedade de movimentos, entre os quais rápidos encurtamento e prolongamento do corpo, movimentos ondulatórios e ondas peristálticas propagadas ao longo do corpo, no eixo anterior/posterior (Mendonça-Silva, Pessôa & Noël, 2002).

Desta forma, os primeiros modelos utilizados para se avaliar a motilidade[1] dos vermes (e o efeito de substâncias sobre esta atividade) baseavam-se na observação visual (Barker, Bueding & Timms, 1966; Tomosky, Bennett & Bueding, 1974; Mellin et al., 1983; Da Silva & Noël, 1995), e avaliação semiquantitativa usando-se diferentes escalas de atividade, baseadas na freqüência e intensidade das contrações (Quadro 1, adiante). Em combinação com estas medidas de motilidade, certos autores estabeleceram medidas separadas do comprimento do verme (Mellin et al., 1983; Da Silva & Noël, 1995), da atividade elétrica superficial (Mellin et al., 1983) ou da capacidade de fixação do verme à superfície de vidro, através da sua ventosa ventral (Da Silva & Noël, 1995) (Figura 4 e Quadro 1, adiante).

Figura 4 – Modelo para avaliação da fixação de *Schistosoma mansoni* através da sua ventosa ventral. Vermes adultos machos eram colocados em 3 ml de solução de Tyrode mantida a 37°C. Os vermes fixados no fundo do vidro de relógio eram facilmente discriminados dos outros pelos movimentos rotatórios dos seus corpos em torno da ventosa, quando o vidro de relógio era levemente agitado

A: Situação-controle, mostrando a posição de um verme fixado antes (1) e depois de leve agitação do vidro de relógio em posição 'sul' (2) ou 'norte' (3).
B: Exemplo de um verme não fixado, flutuando, com seu corpo inteiro acompanhando os movimentos do líquido após agitação em posição 'sul' (2) ou 'norte' (3), como ocorre após adição de praziquantel.
C: Cinética do efeito (inibidor) do praziquantel 0,1 μM (○) e 1 μM (▲) sobre a capacidade de fixação de verme (□, controle).
Fonte (C): Da Silva & Noël (1995).

[1] Motilidade: atividade motora 'global' do verme (tanto deslocamento do corpo, ou porção dele, quanto onda peristáltica).

Outros autores desenvolveram um instrumento que permitia registrar automaticamente os movimentos (de deslocamento do corpo) de forma indireta (Quadro 1, adiante). Hillman & Senft (1973) adaptaram o princípio do teste do campo de atividade (*activity cage*) utilizando para isso um conjunto de células fotoelétricas e fibras óticas: a cada movimento do verme que levasse ao cruzamento de um feixe de luz correspondia uma contagem eletrônica (Figura 5 e Quadro 1). Simultaneamente, Brown et al. (1973) desenvolveram um monitor de atividade baseado no efeito Doppler (deslocamento da freqüência do ultra-som refletido pelos vermes em movimentos).

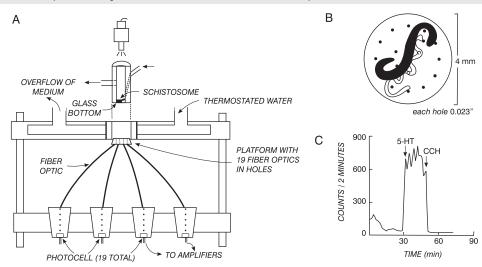



Figura 5 – Modelo para medição automática dos movimentos corporais de *Schistosoma mansoni*

A: Instrumento constituído de fonte luminosa (*light source*), célula perfundida com meio através de bomba (*flow of medium from pump*), em cujo fundo (*glass bottom*) estão depositados os vermes. Do fundo da célula partem 19 fibras óticas (*fiber optic*) em direção a fotocélulas (*photocells*) ligadas a amplificadores (*amplifiers*).

B: Detalhes de um casal de vermes no fundo da célula perfurada, com 19 buracos em contato com as fibras óticas.

C: Efeito de 30 μ M de serotonina (5-HT) e 100 μM de carbacol (CCH) sobre a motilidade de *S. mansoni*, expressa em contagens das fotocélulas num intervalo de dois minutos.

Fonte: Hillman & Senft (1973). Reproduzida do *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 185(2): 177-184, copyright (1973), com permissão da Aspet.

O modelo desenvolvido por Fetterer et al. (1978) e por Fetterer, Pax & Bennett (1977) permite registrar de forma direta os movimentos peristálticos superficiais e de encurtamento, com o uso de eletrodos de sucção e transdutor de tensão (Figura 6 e Quadro 1, adiante). Estes movimentos peristálticos parecem estar relacionados à capacidade de locomoção do verme *in vivo*, ao contrário dos movimentos ondulatórios do corpo, cuja relevância fisiológica é desconhecida (Fetterer, Pax & Bennett, 1980).

Um modelo semelhante foi desenvolvido por Soares de Moura & Rozental (1983), tendo tais autores adaptado um sistema classicamente usado em farmacologia para medição da tensão de músculos lisos: neste caso, o verme era fixado nas suas duas extremidades e realizava-se o registro, isométrico, da força desenvolvida durante a contração medindo-se, sobretudo, a contração da musculatura longitudinal. Pax et al. (1996) fizeram uma contribuição interessante ao adaptar um modelo anterior (Fetterer, Pax & Bennett, 1980) para fixar fatias de músculos longitudinais ou circulares em vez de vermes inteiros. Assim, estes autores obtiveram dados interessantes quanto às características específicas das duas musculaturas, cujos papéis fisiológicos seriam diferentes. A musculatura longitudinal seria importante para a motilidade do verme, ao passo que a musculatura circular teria

como função principal a manutenção do diâmetro do canal ginecofórico e, portanto, o pareamento do casal de vermes (Pax, Siefker & Bennett, 1984). Apesar de esta preparação ser um pouco menos heterogênea, evitando registrar um efeito muscular oriundo de uma ação no sistema nervoso central (Quadro 1, adiante), ela ainda continha terminações nervosas.

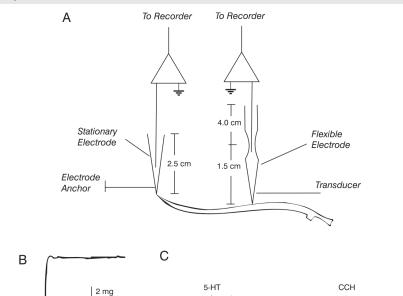



Figura 6 – Modelo para medida direta do encurtamento de *Schistosoma mansoni*

A: Instrumento para registro simultâneo do encurtamento do verme adulto e da atividade elétrica superficial, em dois pontos: um pequeno eletrodo fixo de sucção (*stationary electrode*) é ancorado na ponta da cauda (*electrode anchor*) e outro flexível (*flexible electrode*), na porção dorsal do verme. Este segundo eletrodo é utilizado como elemento de ligação entre o verme e o transdutor (*transducer*) de tal forma a medir o movimento (de encurtamento) do verme.

B: Registro de tensão muscular de um verme adulto macho, mostrando o efeito rápido, elevado e mantido do praziquantel (1 μM). Escala em mg de tensão.

C: Efeitos de 10 μM de serotonina (5-HT) e 100 μM de carbacol (CCH) sobre a atividade mecânica (aqui expressa como encurtamento da porção do verme entre os dois eletrodos) de um verme adulto macho. Escala em mm.

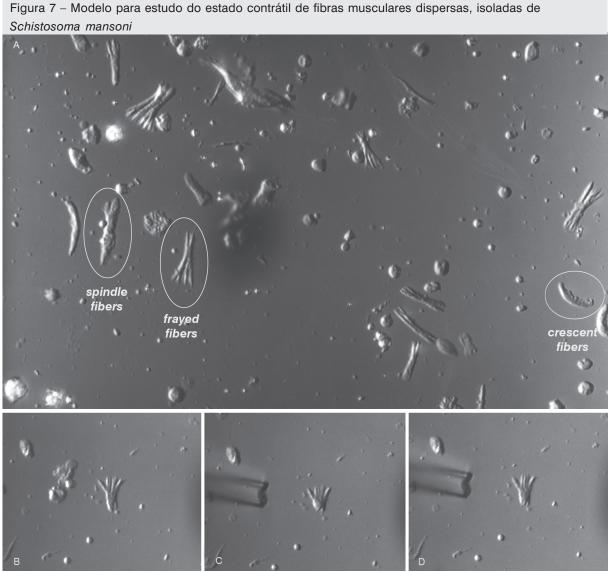
Fontes: Fetterer, Pax & Bennett (1980).

Graças à obtenção, por digestão de pedaços de vermes adultos, de fibras musculares isoladas, Blair et al. (1991) permitiram o estudo direto de substâncias sobre as células musculares sem a interferência de células nervosas.

Devemos, contudo, ficar cautelosos quanto à generalização dos dados obtidos, pois somente é usado um tipo de fibras com morfologia bem peculiar (fibras esfiapadas, vide Figura 7 e Quadro 1), as quais poderiam corresponder às fibras dorsoventrais que delineiam o canal ginecofórico e não às fibras longitudinais (fusiformes) que constituem boa parte da musculatura somática do verme (Mair et al., 2000) e que são responsáveis pelo seu encurtamento.

Recentemente, implantou-se um novo modelo experimental (Mendonça-Silva, Pessôa & Noël, 2002) para que se pudesse avaliar a atividade motora de *S. mansoni*, baseado na observação macroscópica dos vermes não manipulados e na análise das imagens captadas continuamente por uma câmera digital

(Figura 8). Desta forma, tentou-se aliar as vantagens das técnicas antigas de observação dos padrões comportamentais de postura, complexos mas ricos, às vantagens de técnicas de análise mais objetivas e quantitativas (Quadro 1, adiante).

Figura 7 – Modelo para estudo do estado contrátil de fibras musculares dispersas, isoladas de *Schistosoma mansoni*

A: Foto mostrando fibras contráteis obtidas por digestão de pedaços de vermes adultos machos. São destacados os três tipos de fibras contráteis encontrados: poucas fibras fusiformes (*spindle fibers*) e um número semelhante de células com terminações bifurcadas ou esfiapadas (*frayed cells*) e de fibras crescentes, em forma de lua (*crescent fibers*). Uma fibra esfiapada é mostrada antes (B) e logo depois (C) da adição do neuropeptídeo YIRFamida (1 nM), que produz intensa contração da parte não-esfiapada da fibra. (D) representa a fibra alguns segundos após a perfusão do peptídeo, quando começa a 'relaxar'.

Fonte: Tim Day (figuras originais, comunicação pessoal).

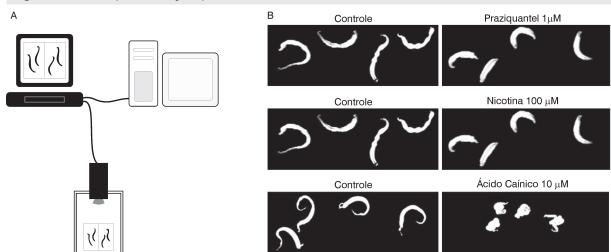



Figura 8 – Modelo para avaliação quantitativa do efeito de fármacos sobre a atividade motora de *S. mansoni*

A: Equipamento utilizado: recipiente de vidro dividido em duas células, contendo 3-4 vermes cada, em banho-maria. Câmera digital ligada a um videocassete e a uma televisão. O sinal é também direcionado para um computador, onde as imagens são analisadas.

B: Fotos típicas, mostrando os vermes na condição-controle e após adição de três substâncias. Nota-se que as moléculas empregadas produziram padrões bem distintos de mudança de atividade motora e aspecto dos vermes. O praziquantel produz um encurtamento rápido, intenso e mantido do verme que adota a forma de meia-lua e perde toda a sua motilidade (paralisia espástica). Os efeitos do praziquantel sobre a musculatura do verme são detalhados no Quadro 1, adiante. A nicotina produz um alongamento do verme e uma paralisia flácida (ver detalhes na Figura 9, adiante). O ácido caínico produz o encolhimento dos vermes, que se apresentam em forma de saca-rolhas e perdem sua motilidade (Figura 10, adiante).

Utilizando os recursos de um programa de análise de imagem (Image-Pro®), pôde-se quantificar tanto o encurtamento dos vermes induzido por praziquantel ou ácido caínico, mediante cálculo da área corporal, como medir a diminuição dos movimentos (paralisia flácida) provocada pela nicotina (Figura 9, adiante). Para esta última análise, foi necessário criar um parâmetro 'deslocamento' para se quantificar a motilidade do verme (Pessôa, Castro & Noël, 2005).

Quadro 1 – Comparação entre as diferentes técnicas usadas para medir a atividade motora de *Schistosoma mansoni*

Método	Tipo de atividade medida	Vantagens	Desvantagens	Refs.**
Microscopia	Deslocamento global ou parcial do corpo* + peristaltismo + alteração de comprimento3	Direto Custo e facilidade Riqueza de informações	Subjetivo Semiquantitativo	(1) (2) (3)
Visual	Deslocamento global ou parcial do corpo + peristaltismo + alteração de comprimento + fixação pela ventosa	Direto Custo e facilidade Riqueza de informações Ventosa (fixação)	Subjetivo Semiquantitativo	(4)
Fotoelétrico	Deslocamento global ou parcial do corpo	Quantitativo Automático	Indireto Intensa luz	(5)
Ultra-som	Deslocamento global ou parcial do corpo	Quantitativo Automático	Indireto	(6)

Quadro 1 – Comparação entre as diferentes técnicas usadas para medir a atividade motora de *Schistosoma mansoni* (continuação)

Método	Tipo de atividade medida	Vantagens	Desvantagens	Refs.**
Transdutor, eletrodo móvel	Encurtamento + peristaltismo + atividade elétrica superficial	Direto Quantitativo músculo longitudinal ≈ Isotônico	Estresse mecânico Manipulação delicada	(7) (8)
Transdutor, eletrodo fixo	Tensão longitudinal + peristaltismo	Direto Quantitativo músculo longitudinal	Estresse mecânico Manipulação delicada Isométrico	(9)
Fatias musculares + transdutor	Tensão do músculo longitudinal Tensão do músculo circular	Direto Quantitativo músculo circular Sem influência do SNC	Presença de terminações nervosas periféricas	(10)
Fibras musculares isoladas	Contração muscular 'pura'	Direto Quantitativo Sem influência do SN	Somente um tipo de fibra (esfiapada): fibra dorsoventral e não longitudinal	(11)
Imagem digital + *Software*	Deslocamento global ou parcial do corpo + alteração de comprimento	Direto Quantitativo Controle paralelo da gravação	Análise dos dados trabalhosa e variável em função do efeito	(12) (13)

* movimento ondulatório do corpo (parcial ou de uma extremidade a outra), a ser diferenciado do movimento peristáltico superficial (que não leva a um deslocamento do verme).

* * Referências relacionadas ao Quadro 1: (1) Barker, Bueding & Timms (1966). (2) Tomosky, Bennett & Bueding (1974). (3) Mellin et al. (1983). (4) Da Silva & Noel (1995). (5) Hillman & Senft (1973). (6) Brown et al. (1973). (7) Fetterer et al. (1978). (8) Fetterer, Pax & Bennett (1977). (9) Soares de Moura & Rozental (1983). (10) Pax, Siefker & Bennett (1984). (11) Blair et al. (1991). (12) Mendonça-Silva, Pessôa & Noël (2002). (13) Pessôa, Castro & Noël (2005).

NEUROTRANSMISSORES ENVOLVIDOS NO CONTROLE DA ATIVIDADE MOTORA

A maioria dos neurônios se comunicam entre si e com outras células por intermédio de mensageiros químicos (neurotransmissores) que eles sintetizam e secretam. Nos platelmintos, de forma geral, existiria um sistema de comunicação rápida envolvendo moléculas de pequeno peso molecular (aminas biogênicas, acetilcolina e aminoácidos) e um sistema mais lento, e evolutivamente mais primitivo, que usaria peptídeos como mensageiros (Halton & Gustafsson, 1996). O estatuto de candidato a neurotransmissor baseia-se em evidências neuroanatômicas e fisiológicas/farmacológicas. As evidências neuroanatômicas são obtidas por experimentos de citoquímica que fazem uso de anticorpos e técnicas microscópicas anteriormente descritas, ao passo que as evidências farmacológicas são obtidas por meio de diversos modelos experimentais que permitem avaliar o efeito de substâncias exógenas sobre a motilidade ou contração/relaxamento da musculatura do verme. No Quadro 2 são apresentas as substâncias que podem ser consideradas neurotransmissores ou neuromoduladores em *S. mansoni*, assim como seus efeitos sobre a atividade motora do verme adulto.

Quadro 2 – Candidatos a neurotransmissores envolvidos no controle da motilidade de *Schistosoma mansoni* adulto

Mediadores	Localização			Atividade motora (motilidade); Contração do verme inteiro; Contração de fatia de músculo (L/C)	Fibras isoladas
	SNC	SNP	MS		
Aminas					
Serotonina	P[1] P[2] P[3]	P[1] P[2] P[3]	P[1] P[2] P[3]	↑ motilidade[4], [5], [6] ↑ freqüência e amplitude contração[7] induz contração rítmica[8] ↑ (L) ou ↓ (C) tônus muscular[8]	↑ resposta ao K^+ [9]
Dopamina	P[2] P[10]	P[2] P[10]	A[2] A[10]	→ motilidade[4], [5] ↑ comprimento verme[4], [5] ↓ tônus muscular (L e C)[8]	(↓) resposta ao FMRFamida[11]
Noradrenalina, Adrenalina	P[2] P[10]	P[2] P[10]	A[2] A[10]	→ motilidade[4], [5] ↑ comprimento verme[4], [5]	
Acetilcolina*	P[12]	P[12]		paralisia flácida[4], [5], [6], [13], [14], [15] ↓ tensão (L)[13] ↓ tônus muscular (L e C)[8]	resposta ao FMRFamida[11] ↓ (M) → (N)
Aminoácidos					
Glutamato (ácido caínico)				→ motilidade[5], [16] motilidade: ↓ [16] → [5]	Contração[17] →[17]
GABA	P[18]	P[18]	P[18]	→ motilidade[5]	→ resposta ao FMRFamida[11]
Neuropeptídeos					
FaRPs	P[2]	P[2]	A[2]	→ motilidade[19] ↑ tensão da fatia[5]	Contração[19], [20]

SNC: sistema nervoso central. SNP: sistema nervoso periférico. MS: musculatura somática. L: músculo longitudinal. C: músculo circular. P: presente. A: ausente.

* Os efeitos indicados são de substâncias colinomiméticas seletivas (muscarínicas M e nicotínicas N) ou não (por exemplo, carbacol) e não necessariamente da própria acetilcolina. Localização de atividade acetilcolinesterásica (e não de acetilcolina).

FaRPs: peptídeos relacionados a FMRFamida (RYIRFa, GNFFRFa, GYIRFa ou YIRFa).

Detalhes das técnicas utilizadas para medir a atividade motora global do verme (motilidade), a contração do verme inteiro (encurtamento do músculo longitudinal + peristaltismo) e a contração de fibras isoladas são fornecidos anteriormente.

Referências relacionadas ao Quadro 2:

(1) Mair et al. (2000). (2) Gustafsson (1987). (3) Bennett & Bueding (1971). (4) Tomosky, Bennett & Bueding (1974). (5) Mellin et al. (1983). (6) Hillman & Senft (1973). (7) Pax et al. (1996). (8) Pax, Siefker & Bennett (1984). (9) Day, Bennett & Pax (1994). (10) Gianutsos & Bennett (1977). (11) Day et al. (1996). (12) Fripp (1967). (13) Pax & Bennett (1991). (14) Barker, Bueding & Timms (1966). (15) Pessôa, Castro & Noël (2005). (16) Mendonça-Silva et al. (2002). (17) Miller et al. (1996). (18) Mendonça-Silva et al. (2004). (19) Day & Maule (1999). (20) Day et al. (1994).

Serotonina

A serotonina (5-HT) parece ser a amina biogênica dominante em todos os platelmintos, e há evidências experimentais de que exerça um papel importante no controle neuromuscular de *S. mansoni*, sendo um neurotransmissor (ou modulador) excitatório.

Evidências neuroanatômicas

Estudos de microscopia outrora mencionados demonstraram a existência de uma inervação serotoninérgica extensa e uma aparência varicosa das fibras serotoninérgicas, sugerindo a presença de numerosos sítios de liberação do neurotransmissor ao longo dos axônios (Mair et al., 2000; Gustafsson, 1987).

Evidências fisiológicas e/ou farmacológicas

A adição de serotonina no meio de incubação aumenta a motilidade do verme adulto, *in vitro*, (Figura 5C e Quadro 2) e aumenta a freqüência e amplitude das contrações do verme inteiro, quando fixado de forma a se medir, principalmente, a contração da sua musculatura longitudinal (Figura 6C e Quadro 2).

Estes efeitos podem ser o resultado de ativação de neurônios serotoninérgicos que inervam a massa muscular corporal e/ou de ativação direta da musculatura. Experimentos com fibras isoladas mostraram que a serotonina é capaz de ativar diretamente a célula muscular. Porém, este efeito é mais sutil: a serotonina não contrai a fibra (pelo menos a fibra de tipo 'esfiapada'), mas é indispensável para que a fibra mantenha sua contratilidade (Day, Bennett & Pax, 1994). Desta forma, a serotonina poderia atuar como modulador (e não neurotransmissor) excitatório, pelo menos no que diz respeito à junção neuromuscular. A situação parece mais complexa ainda, pois a serotonina tem efeitos diferentes dependendo do músculo somático estudado: apesar de induzir uma atividade contrátil rítmica em ambos os músculos, ela aumenta o tônus do músculo longitudinal enquanto diminui o tônus do músculo circular (Pax, Siefker & Bennett, 1984).

Quanto à presença e natureza de um receptor serotoninérgico em *S. mansoni*, estudos funcionais indicam a presença de um receptor com perfil farmacológico diferente dos subtipos de receptores serotoninérgicos presentes em mamíferos (Pax, Siefker & Bennett, 1984; Mellin et al., 1983; Willcokson & Hillman, 1984). Basicamente, esta caracterização farmacológica é realizada avaliando-se a atividade de diversos agonistas e antagonistas serotoninérgicos, sendo alguns seletivos para determinados subtipos de receptores serotoninérgicos em mamíferos. Graças aos avanços das técnicas de biologia molecular, estão agora disponíveis informações estruturais quanto à natureza do receptor serotoninérgico de *S. mansoni.* De fato, um cDNA codificando um possível receptor serotoninérgico foi clonado por Hamdan & Ribeiro (Hamdan & Ribeiros, 1999) e uma seqüência organizada de etiquetas de regiões codantes (EST: *Expressed-Sequence Tags*) correspondendo a um gene codificando um receptor serotoninérgico foi reportado por Verjovski-Almeida et al. (Verjovski-Almeida, 2003) (Quadro 3).

A maior fonte de 5-HT de *S. mansoni* parece provir do hospedeiro, por difusão passiva e carreadores específicos (Wood & Mansour, 1986). Por um lado, esta dependência de serotonina poderia explicar o tropismo do parasito para o sistema venoso mesentério do hospedeiro, onde a concentração plasmática de serotonina, produzida pela mucosa gastrintestinal, é três vezes maior do que no sangue arterial (Erspamer & Testini, 1959). Por outro lado, a recente caracterização de uma enzima triptofano-hidroxilase funcional em *S. mansoni* (Hamdan & Ribeiros, 1999) sugere que este verme é capaz de sintetizar a serotonina a partir de triptofano, de forma endógena, ao contrário do que se pensava até então.

Catecolaminas e Histamina

Evidências neuroanatômicas

Com técnicas histoquímicas e bioquímicas (Quadro 2), pequenas quantidades de catecolaminas (dopamina, noradrenalina e/ou adrenalina) foram detectadas nos gânglios cerebrais e troncos nervosos, assim como numa rede de fibras inervando o parênquima e a camada muscular de *S. mansoni* (Bennett & Bueding, 1971). Quatro pares de grandes neurônios reativos foram localizados ao longo dos troncos nervosos do verme (Gianutsos & Bennett, 1977). As catecolaminas têm uma distribuição mais discreta e mais restrita do que a serotonina que é encontrada de forma difusa e ampla dentro do parênquima, em numerosos grânulos de armazenamento (Bennett & Bueding, 1971).

Evidências fisiológicas e/ou farmacológicas

Dopamina, noradrenalina e adrenalina não afetam a motilidade do verme adulto mas produzem um grande aumento do seu comprimento (ver Quadro 2), correspondendo ao relaxamento da sua musculatura longitudinal (Pax, Siefker & Bennett, 1984). Estes efeitos seriam decorrentes da ação em receptor dopaminérgico, já que eles são bloqueados efetivamente por antagonistas dopaminérgicos, enquanto antagonistas α e β-adrenérgicos são pouco eficientes (Tomosky, Bennett & Bueding, 1974).

Considerando-se a possibilidade de haver aminas não catecolaminérgicas envolvidas na neurotransmissão do esquistossoma, vale ressaltar a clonagem de um cDNA codificando uma proteína acoplada à proteína G, que poderia corresponder a uma nova classe de receptor histaminérgico, própria dos platelmintos, e que estaria relacionada ao controle da motilidade do verme (Hamdan et al., 2002).

Acetilcolina

Evidências neuroanatômicas

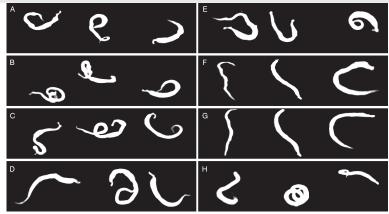
Estudos histoquímicos revelaram uma extensa marcação para atividade colinesterásica, uma prova indireta da presença de acetilcolina, no sistema nervoso de *S. mansoni* (Fripp, 1967) assim como de todos os platelmintos estudados. Como a serotonina, a acetilcolina tem distribuição ampla, em vários órgãos.

Evidências fisiológicas e/ou farmacológicas

Assim como na maioria dos trematódeos, a acetilcolina (ACh) parece ter um papel fisiológico importante como neurotransmissor inibitório em *S. mansoni*, já que a atividade muscular deste verme é reduzida por agentes colinomiméticos (carbacol e nicotina,[2] por exemplo) e inibidores de acetilcolinesterase (Tomosky, Bennett & Bueding, 1974; Mellin et al., 1983) produzindo uma paralisia flácida (Quadro 2). Esta paralisia flácida pode ser definida como perda de motilidade acompanhada por alongamento do verme em decorrência do relaxamento da sua musculatura longitudinal somática (Figura 9).

---

[2] Há dados controversos quanto ao efeito de nicotina exógena: enquanto Barker, Bueding & Timms (1966) e Mellin et al. (1983) não registraram nenhum efeito sobre a motilidade do verme, Pax & Bennett (1991) registraram diminuição da tensão basal do verme (relaxamento do músculo longitudinal). A Figura 9 demonstra que a nicotina induz a paralisia flácida. Tal discrepância de resultados pode estar relacionada à adição ou não de serotonina no meio de incubação.

Figura 9 – Imagens digitalizadas mostram as posturas de vermes adultos machos na ausência (controle, A-D) e na presença de 100 μM de nicotina (E-H). As imagens A e E correspondem à postura dos vermes antes da adição de nicotina (E). As imagens F e G mostram o efeito da nicotina um e dez minutos após sua adição: os vermes são alongados e permanecem exatamente na mesma posição durante todo este intervalo de tempo (paralisia flácida). B e C são imagens correspondendo aos controles temporais. Nota-se que o efeito da nicotina é completamente revertido dez minutos após lavagem (H). Detalhes da técnica utilizada para medir a atividade motora global do verme (motilidade) são fornecidos na Figura 8

Fonte: Pessôa, Castro & Noël (2005).

Quanto ao tipo de receptor colinérgico envolvido, evidências farmacológicas apontam para um receptor diferente dos receptores de mamíferos, já que tanto agonistas muscarínicos (porém, não a própria muscarina) como nicotínicos mimetizam o efeito da acetilcolina (Pax & Bennett, 1991). Uma diferença qualitativa entre os efeitos de um análogo sintético da acetilcolina sobre a atividade motora de *S. mansoni* e preparações neuromusculares de vertebrados foi evidenciada por Willcockson et al. (1981), que propuseram ser possível desenhar moléculas com neurotoxicidade espécie-seletiva (vide seção Sistema Neuromuscular como Alvo para Fármacos Esquistossomicidas: perspectivas). Evidentemente, a complexidade deste modelo não permite conclusão definitiva, não se podendo excluir a hipótese da existência de vários tipos de receptores colinérgicos e de ação em múltiplos sítios (SNC, SNP e musculatura). Em um modelo menos heterogêneo, com um tipo peculiar de fibras musculares isoladas (Figura 7 e seção Sistema Muscular do *Schistosoma mansoni*), os dados experimentais apontam também para um receptor nicotínico de farmacologia não convencional (Day et al., 1996). Neste caso particular, agonistas muscarínicos como a arecolina e o carbacol (mas não a muscarina), por um lado, são capazes de bloquear o efeito contrativo da FMRFamida, ao passo que a nicotina não tem efeito. Por outro lado, este efeito colinérgico é bloqueado pela α-bungarotoxina (clássico bloqueador do receptor nicotínico 'muscular' e das isoformas contendo a subunidade α_7), mas não pela atropina, antagonista muscarínico clássico em mamíferos, que bloqueia também o efeito paralisante que o carbacol exerce quando aplicado em vermes inteiros (Mellin et al., 1983).

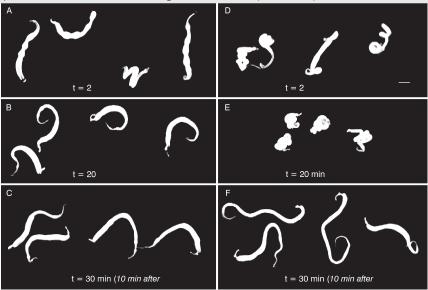
O papel da acetilcolina como neurotransmissor é reforçado pelo fato de o verme possuir as enzimas necessárias para sua síntese e degradação – colina acetiltransferase e acetilcolinesterase, respectivamente. Esta última enzima é encontrada na cercária e em todos os estágios do ciclo evolutivo de *S. mansoni* (Day et al., 1996). A acetilcolinesterase está presente em tecidos musculares e há uma clara evidência de que está envolvida no controle da função muscular (Pax, Siefker & Bennett, 1984). Nota-se que a acetilcolinesterase

é também encontrada na superfície do parasito, covalentemente ancorada ao tegumento via fosfatidilinositol, onde teria papel fisiológico importante na captação de glicose. Esta enzima parece ser o alvo terapêutico do metrifonato, anticolinesterásico particularmente eficaz contra *S. haematobium,* espécie que se caracteriza por uma alta atividade acetilcolinesterásica (Camacho et al., 1994).

Glutamato

Apesar de ser candidato a neurotransmissor em pelo menos dois cestódios (Halton & Gustafsson, 1996), não há evidências diretas da presença de um sistema de neurotransmissão glutamatérgico em trematódeos, muito menos em *S. mansoni*. Entretanto, há índices como a presença de imunomarcação com anticorpos antiglutamato no sistema nervoso central e periférico de *F. hepatica* adulta (Brownlee & Fairweather, 1996) e de cercárias de *S. mansoni* (Solis-Soto & Brink, 1994), assim como a existência de um transportador de glutamato em fibras musculares isoladas de *S. mansoni* adulto (Miller et al., 1996).

Mais recentemente, estudos de binding realizados em frações subcelulares de *S. mansoni* evidenciaram a presença de sítios de ligação de baixa afinidade para o [^{3}H]-ácido caínico, um ligante dos receptores glutamatérgicos ionotrópicos do tipo cainato em mamíferos, reforçando a possibilidade de uma via de sinalização, no parasito, para o glutamato (Mendonça-Silva, Pessôa & Noël, 2002). A adição de ácido caínico no meio de incubação produziu uma drástica alteração do padrão de motilidade dos vermes adultos, os quais se apresentavam encolhidos em forma de saca-rolhas, sem movimentos (Figura 10).

Figura 10 – Na imagem digitalizada visualizamos o padrão de postura de *Schistosoma mansoni* adultos machos na ausência (controle, A-C) e presença de 10 μM de ácido caínico (D-F). Os vermes controles apresentam uma variedade de posturas, incluindo movimentos peristálticos (A). Nota-se que o ácido caínico produziu o encolhimento dos vermes, que se apresentam em forma de saca-rolhas e perderam sua motilidade, de forma tempo-dependente (vide efeitos após dois minutos, em D, e vinte minutos, em E). Os efeitos do ácido caínico são reversíveis, tendo sido completamente revertidos dez minutos após a lavagem (F). Detalhes da técnica utilizada para medir a atividade motora global do verme (motilidade) são fornecidos na Figura 8B

Fonte: Mendonça-Silva, Pessôa & Noël (2002).

Como um todo, os dados existentes indicam a presença de um sistema de sinalização glutamatérgico em *S. mansoni*, talvez envolvido no controle da motilidade do verme adulto, apesar de que os efeitos do ácido caínico sobre a motilidade do verme podem ter se originado em receptores superficiais localizados no tegumento e, portanto, ter relevância farmacológica e não fisiológica (Mendonça-Silva, Pessôa & Noël, 2002).

A identificação de receptores de glutamato, acoplados tanto a canais iônicos, como também à proteína G, assim como de glutamato sintase e glutamato desidrogenase (Quadro 3), corroboram a hipótese de existir uma via de sinalização do L-glutamato, em *S. mansoni*.

GABA

O γ-ácido aminobutírico (GABA) é um importante neurotransmissor inibitório de grande ocorrência tanto em vertebrados como em invertebrados. Entretanto, apesar de numerosas provas da presença de transmissão GABAérgica em nematódeos, houve pouca exploração quanto ao papel fisiológico deste aminoácido em platelmintos. A presença de GABA no sistema nervoso central de todos os (poucos) platelmintos estudados, sua grande concentração e a capacidade destes animais de sintetizarem tal aminoácido sugerem um papel funcional, talvez como um neurotransmissor inibitório (Halton & Gustafsson, 1996). No entanto, ainda não foram detectados receptores para o GABA, tampouco algum efeito que este aminoácido possa causar sobre a atividade motora de platelmintos, *in vivo*. Estudos de motilidade com agonistas GABAérgicos, antagonistas e bloqueadores do canal de cloreto, não revelaram nenhum efeito sobre a atividade motora de *S. mansoni* (Mellin et al., 1983).

Recentemente, várias evidências apontaram, pela primeira vez, a existência de uma via de sinalização GABAérgica que poderia exercer um papel fisiológico no sistema neuromuscular de *S. mansoni* adulto (Mendonça-Silva et al., 2004). Tais evidências foram:

- Detecção de imunorreatividade anti-GABA em células e fibras nervosas dos gânglios cerebrais, troncos nervosos longitudinais e plexos se ramificando nos parênquimas (Figuras 11A e 11B). Uma forte marcação foi também encontrada associada às ventosas oral e ventral (Figura 11C), assim como nos testículos (Figura 11D), indicando um papel do GABA na fixação à parede vascular do hospedeiro e na espermatogênese.
- Detecção imunológica e bioquímica de uma glutamato decarboxilase (GAD) funcional.
- Observação de uma modificação da motilidade de vermes adultos *in vitro* na presença de picrotoxina, um antagonista não-competitivo do receptor $GABA_A$. Este efeito poderia refletir um estímulo excitatório indireto devido ao bloqueio de um tônus GABAérgico inibitório.

Esta hipótese é compatível com a recente descrição da existência de transcritos para transportador de GABA e proteínas associadas a receptor GABA, em *S. mansoni*.

Neuropeptídeos

Potencialmente, há uma grande quantidade de peptídeos bioativos em platelmintos, sendo alguns semelhantes aos encontrados no sistema nervoso de mamíferos e outros próprios dos platelmintos. De fato, seis neuropeptídeos originários de platelmintos foram isolados e suas seqüências de aminoácidos determinadas, o que permitiu gerar anti-soros altamente específicos usados para imunoistoquímica.

Quatro destes peptídeos são relacionados a FMRFamidas (FaRPs)[3] e dois são neuropeptídeos F, originários de *M. expansa* e *A. triangulata*, respectivamente (Gustafsson et al., 2002).

Figura 11 – Imagens digitalizadas de *Schistosoma mansoni* adulto macho, obtidas pela técnica de imunocitoquímica com anticorpos anti-GABA e sistema de detecção biotina/avidina-peroxidase (microscopia ótica). As barras correspondem a 50 μm

A: Corte transversal (20 μm) do corpo, mostrando uma imunorreatividade anti-GABA (GABA-IR) nos troncos nervosos (seta comprida) e na rede periférica (P). GABA-IR na rede periférica é formada por corpos celulares neuronais (cabeça de seta) e fibras nervosas. Notam-se numerosas terminações nervosas (pequenas setas) em protusões do tegumento ao longo da superfície externa. (G) corresponde ao trato alimentar.

B: Corte longitudinal (20 μm): aspecto típico dos troncos nervosos longitudinais, com fibras apresentando reatividade positiva aos anticorpos anti-GABA e percorrendo, em grupos ou sozinhas, o corpo inteiro. Notam-se nervos laterais que se dirigem para a superfície externa e vários grupos de fibras indo para o centro do verme.

C: Corte longitudinal (20 μm) mostrando imunorreatividade anti-GABA (GABA-IR) nas estruturas de fixação: imunomarcação forte e difusa na ventosa oral (OS) e na ventosa ventral (VS).

D: Corte longitudinal (20 μm) mostrando GABA-IR no sistema reprodutivo. Uma intensa imunomarcação, com aspecto amorfo, é observada nos lobos testiculares (TL). G: trato alimentar.

Fonte: adaptado de Mendonça-Silva et al. (2004).

Evidências neuroanatômicas

As fibras peptidérgicas formam a maior parte dos gânglios cerebrais e contribuem na formação dos troncos nervosos principais e das comissuras (ver Figura 3 e seção Sistema Nervoso de *Schistosoma mansoni*). Elas inervam ricamente a musculatura das ventosas e dos aparelhos digestivo e reprodutor (Gustafsson et al., 2002). A imunomarcação encontrada em *S. mansoni* foi contra substância P e Leu-encefalina, claramente associados a receptores sensoriais. A reatividade a FaRPs, por exemplo, é de intensidade média. Em

[3] FMRFamida = fenil-metil-arginina-fenil-NH2. Os quatro peptídeos estruturalmente relacionados a FMRFamida e de origem platelmíntica são: YIRFamida (*Bdelloura candida*); GYIRFamida (*Dugesia tigrina*); RYIRFamida (*Artioposthia triangulata*); GNFFRFamida (*Monezia expansa*).

contrapartida, a maioria dos platelmintos estudados exibem uma forte reatividade a FaRPs e GHRF (Gustafsson, 1987). Há uma sobreposição freqüente entre a imunomarcação peptidérgica e colinérgica, podendo ser indício de co-transmissão, enquanto a imunomarcação serotoninérgica é freqüentemente distinta, sendo localizada em feixes de neurônios diferentes (Gustafsson et al., 2002). Não há indícios de inervação das fibras musculares longitudinais por fibras contendo neuropeptídeos P ou FaRPs, ao contrário do que foi observado para serotonina, com elevados níveis de expressão numa extensa rede de plexos nervosos submusculares (Mair et al., 2000). Porém, há presença de fibras peptidérgicas nos plexos nervosos associados às fibras dorsoventrais do canal ginecofórico, assim como nos plexos inervando as ventosas oral e ventral (Mair et al., 2000). É de se notar que a ausência de fibras peptidérgicas inervando a musculatura somática pode ser considerada controversa, já que um desses mesmos autores – Maule – reportou a ocorrência de imunorreatividade contra estes peptídeos, uma revisão anterior (Day & Maule, 1999).

Evidências Fisiológicas e/ou Farmacológicas

A FMRFamida não afeta a atividade motora dos vermes inteiros, *in vitro*, provavelmente porque estas moléculas muito polares (e de peso molecular razoável) não têm como alcançar o interior do animal ou porque são rapidamente degradadas por peptidases do verme (Day et al., 1994). Entretanto, há evidências diretas implicando os FaRPs no controle da musculatura somática de *S. mansoni*: tais peptídeos são mioexcitatórios não somente em fatias de músculos contendo nervos (Day & Maule, 1999) como também em fibras musculares isoladas (Day et al., 1994; Figura 7C). A contração destas fibras musculares é dependente da entrada de cálcio extracelular, aparentemente por via diferente dos canais de cálcio dependentes de voltagem ativados por altas concentrações de K^+ (Day et al., 1994), sendo proposto o envolvimento de canais de cálcio regulados por receptores (ROCC), conforme esquematizado na Figura 12 (seção Controle da Homeostasia do Cálcio). A ação potente, específica e imediata dos peptídeos FaRPs sobre a musculatura do verme sugere que eles estão atuando como neurotransmissores rápidos e não como moduladores, como é o caso em espécies mais evoluídas (Day & Maule, 1999).

Baseado na localização das fibras imunorreativas em relação ao neuropeptídeo F, este peptídeo teria papel na coordenação dos processos reprodutivos, da musculatura somática (devido a sua presença nos plexos periféricos associados a esta musculatura), das ventosas e da alimentação do *Schistosoma*.

Para terminar, encontram-se resumidas, no Quadro 3, as evidências 'gênicas' da existência de vias de neurotransmissão para as moléculas anteriormente citadas e a relação das proteínas que supostamente fazem parte destes sistemas, quer sejam receptores, proteínas de transporte ou enzimas envolvidas na síntese/degradação dos neurotransmissores.

Quadro 3 – Evidências gênicas da existência dos diferentes neurotransmissores em esquistossomas

Neurotransmissor	Função	Refs.*	Homólogo
Serotonina	Transportador	SmAE 709958.1	Transportador de serotonina (camundongo)
	Receptor	SmAE 702111.1	Receptor de serotonina acoplado à proteína G
	Enzima (síntese)	(1)	Triptofano-hidroxilase

Quadro 3 – Evidências gênicas da existência dos diferentes neurotransmissores em esquistossomas (continuação)

Neurotransmissor	Função	Refs.*	Homólogo
Dopamina	Transportador	SmAE 611646.1	Transportador de dopamina (*Drosphila melanogaster*) Transportador de noradrenalina (galinha)
Acetilcolina	Receptor	SmAE 606306.1	Precursor cadeia α_2 receptor colinérgico (galinha) Cadeia β_3 rec. nicotínico (humano)
		SmAE 710243.1	Subunidade α_3 receptor nicotínico neuronal (gato e humano)
		SmAE 719264.1	Precursor polipeptídeo δ receptor nicotínico (humano)
		AY392154(2) AY392155(2)	Subunidade α_7 e α_8 receptor nicotínico (vertebrados)
	Enzima (síntese)	SmAE 705718.1	Colina-O-acetiltransferase (*Echinococcus multilocularis*)
	Enzima (metabolismo)	SmAE 713648.1	Precursor de acetilcolinesterase (*Schizaphis graminum*)
Glutamato	Receptor	SmAE 705975.1	Receptor NMDA tipo 1 Receptor NMDA tipo 1, subunidade 3 (humano)
		SmAE 716672.1	Receptor NMDA Receptor NMDA tipo 1, subunidade 3 (humano)
		SmAE 610861.1	Precursor receptor metabotrópico subtipo 3 (camundongo)
	Transportador	SmAE 711869.1	Transportador de glutamato (abelha) Transportador de aminoácidos excitatórios, tipo 2 (humano)
	Enzima (síntese)	SmAE 609636.1	Precursor da glutamato sintase (NADH2) (*Neurospora crassa*)
	Enzima (catabolismo)	SmAE 600176.1	Glutamine sintetase (camundongo)
	Enzima (catabolismo)	SmAE 604097.1	Glutamato desidrogenase (GDH) 3 (*Oncorhynchus mykiss*) Glutamato desidrogenase (humano)
GABA	Receptor	SmAE 709016.1	Variante da subunidade ε do receptor $GABA_A$ (rato)
	GABARAP	SmAE 604360.1	Proteína associada ao receptor $GABA_A$ (*Gillichthys mirabilis*)

* Refs.: os números entre parênteses – (1) e (2) – correspondem, respectivamente, às referências Hamdan & Ribeiros (1999) e Bentley et al. (2004); os códigos, aos do GenBank; e os SmAE, às seqüências organizadas de etiqueta de região codante (EST) de *S. mansoni* (Verjovski-Almeida et al., 2003).

Homólogo: proteína que apresenta a maior homologia no banco de gene (*GenBank NR best hit*).

CONTROLE DA HOMEOSTASIA DO CÁLCIO

Assim como para os mamíferos (Putney, 1999; Rizzuto, Pozzan & Carafoli, 2002), a manutenção de baixas concentrações citossólicas de cálcio (na faixa de 100 nM) parece ser muito importante para a fisiologia celular, como um todo, e para a contratilidade muscular, em particular, de *S. mansoni*.

Por analogia com os mamíferos, é de se esperar que a contração do músculo liso presente em *S. mansoni* seja mais dependente do cálcio extracelular, entrando via canais de cálcio presentes na membrana plasmática (ver subseção Membrana Plasmática: canais de cálcio dependentes de voltagem – VOCC, adiante), do que do cálcio intracelular armazenado no retículo endoplasmático, ao contrário do que é observado em músculos estriados (Anderson, 1978). De fato, dados morfológicos mostraram que o retículo endoplasmático do músculo de *S. mansoni* é relativamente esparso, de tal forma que se pensou inicialmente que este não poderia conter estoques de cálcio suficientes para sustentar a contração (Silk & Spence, 1969). Experimentos com fibras musculares isoladas de vermes adultos demonstraram o contrário (ver item CA^{2+}-ATPase), como previsto por um conjunto de estudos de farmacologia bioquímica (ver itens CA^{2+}-ATPase e Retículo Endoplasmático: RyR e IP_3R) que indicou a presença de bombas de cálcio e de canais de cálcio no retículo endoplasmático.

O estudo da homeostasia do cálcio em *S. mansoni* revelou, de forma um pouco surpreendente tendo em vista a enorme distância filogenética entre platelmintos e vertebrados atuais (Halton & Gustafsson, 1996; Hanson, 1972), que aquele parasito controla sua concentração citossólica de cálcio de forma qualitativamente similar à dos mamíferos (ver Figura 12). Em função desta conclusão, podemos imaginar que os sistemas atuais de controle da homeostasia do cálcio foram selecionados muito cedo durante o processo evolutivo e que a presença de diferentes isoformas de certas proteínas para exercer um mesmo trabalho pode ser considerada uma vantagem filogenética (Noël et al., 2001).

Já dado o contexto, inicia-se agora uma pequena revisão dos achados experimentais relacionados às proteínas que participam no controle da homeostasia do cálcio em *S. mansoni*, agrupadas em ATPases de transporte, canais de cálcio e proteínas (intracelulares) ligantes de cálcio. Uma representação sinóptica destas proteínas, com sua localização subcelular e interações funcionais, é apresentada na Figura 12, em esquema do que poderia ser uma célula muscular hipotética de *S. mansoni*.

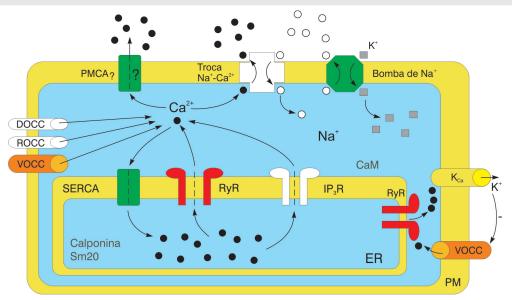
ATPases de Transporte

Na^+,K^+-ATPase

A Na^+,K^+-ATPase é uma enzima transmembranar, presente em praticamente todas as células do reino animal, que utiliza a energia proveniente da hidrólise de uma molécula de ATP para transportar, contra seus gradientes eletroquímicos, dois íons K^+ para o interior celular e três íons Na^+ para o meio extracelular (Sweadner, 1989). Desta forma, esta 'bomba de sódio' mantém os gradientes iônicos necessários para diversas funções celulares, entre as quais a manutenção do potencial de membrana e a extrusão de cálcio citossólico através da troca Na^+-Ca^{2+}, além de ser o receptor dos digitálicos (Sweadner, 1989), fármacos (ainda) utilizados no tratamento da insuficiência cardíaca.

Em *S. mansoni*, a presença da enzima Na^+,K^+-ATPase foi demonstrada pela primeira vez por Nechay et al. (Nechay, Hillman & Dotson, 1980), que identificaram uma pequena atividade ATPásica, estimulada por sódio e inibida por ouabaína, em homogeneizado de verme adulto. Utilizando seu novo modelo de estudo da atividade contrátil do verme (Figura 6), (Fetterer et al.; Fetterer, Pax & Bennett, 1981) propuseram

que há um papel relevante daquela enzima na contração muscular e na manutenção do potencial de membrana tegumentar, baseando-se na despolarização importante do tegumento e na contração intensa da musculatura somática provocadas pela ouabaína, inibidor seletivo da Na^+,K^+-ATPase. Mais recentemente, foi sugerido que esta enzima poderia também conferir resistência ao efeito danoso do complemento (Tarrab-Hazdai et al., 1997). Em 1986, inicia-se um estudo mais detalhado das propriedades bioquímicas da Na^+,K^+-ATPase neste verme. Apesar de ser muito semelhante à enzima de mamífero no que diz respeito aos seus ativadores fisiológicos (Noël & Soares, 1986), a enzima do parasito mostrou certas diferenças farmacológicas, sendo muito mais resistente ao vanadato, um clássico inibidor das ATPases do tipo P (Noël & Pardon, 1989) e à ouabaína, um inibidor específico das Na^+,K^+-ATPases. Nesta ocasião, detectou-se uma diferença de sensibilidade entre as atividades presentes no tegumento e na carcaça do verme (Noël & Soares, 1986), o que indicava a possibilidade de haver pelo menos duas isoformas da Na^+,K^+-ATPase em *S. mansoni*, como é a regra em mamíferos (Sweadner, 1989). Esta hipótese foi reforçada quando caracterizou-se a presença de duas populações de sítios de ligação para [^{3}H]-ouabaína, em homogeneizado de verme adulto (Pardon & Noël, 1994). Uma isoforma da subunidade   da Na^+,K^+-ATPase de *S. mansoni* (SNaK1) foi recentemente clonada e caracterizada (Skelly et al., 2001). Esta isoforma está presente na musculatura periférica assim como em vesículas neuronais de axônios associados à camada muscular periférica, mas não no tegumento do verme. SNaK1 apresenta aproximadamente 70% de identidade e 80% de similaridade com as isoformas humanas. Nota-se que um fragmento deste cDNA, codificando 104 aminoácidos (SMIV), já havia sido descrito anteriormente (De Mendonça et al., 1995).

Figura 12 – Esquema sinóptico das proteínas envolvidas no controle da homeostasia do cálcio numa célula muscular de *Schistosoma mansoni* adulto

ER: retículo endoplasmático. CaM: calmodulina. DOCC: canal de cálcio ativado por depleção dos estoques de cálcio intracelulares (modelo capacitativo, *depletion-operated calcium channel*). IP_3R: receptor de inositol 1,4,5-trifosfato. Kca: canal de potássio ativado por cálcio. PM: membrana plasmática. PMCA: Ca^{2+}-ATPase da membrana plasmática (*Plasma Membrane Ca-ATPase*). ROCC: canal de cálcio ativado por receptor (*receptor-operated calcium channel*). RyR: receptor da rianodina. SERCA: Ca^{2+}-ATPase de Retículo Endo ou Sarcoplasmático" (*Sarcoendoplasmic Reticulum Ca-ATPase*). VOCC: canal de cálcio dependente de voltagem (*voltage-operated calcium channel*).

Nota-se que ainda não há evidência de troca Na^+-Ca^{2+} nem de DOCC. Como exemplo de ROCC, tem-se o canal ativado pelos neuropeptídeos.

Este esquema constitui uma versão atualizada daquela publicada anteriormente (Noël et al., 2001).

Ca^{2+}-ATPase

Em mamíferos, as (Ca^{2+}+Mg^{2+})-ATPases são responsáveis pela captação de cálcio pelo retículo endo/sarcoplasmático e constituem parte do sistema de efluxo de cálcio presente na membrana plasmática, sendo assim peças importantes na homeostasia do cálcio citossólico (Carafoli, 1987). (Ca^{2+}+Mg^{2+})-ATPases estão também presentes no aparelho de Golgi e no envelope nuclear (Rizzuto, Pozzan & Carafoli, 2002).

Em franco contraste com os inúmeros estudos em mamíferos, as informações sobre Ca^{2+}-ATPase em *S. mansoni* era restrita, até pouco tempo, a poucos estudos demonstrando a presença de ATPases ativadas por altas concentrações de Ca^{2+} e/ou Mg^{2+}, parecidas com a ATPase 'basal' descrita no tegumento do verme (Cunha & Noël, 1988). Somente em 1988, pôde-se demonstrar a presença de uma verdadeira (Ca^{2+}+Mg^{2+})-ATPase, isto é, uma Mg^{2+}-ATPase estimulada por concentrações micromolares de cálcio, em *S. mansoni* (Cunha, De Souza & Noël, 1988). Esta atividade, presente sobretudo na fração microssomal, apresentava características clássicas de uma 'bomba de cálcio', o que foi definitivamente demonstrado mais tarde quando realizados experimentos de captação de $^{45}Ca^{2+}$ (Cunha, Meyer-Fernandes & Noël, 1988). Enquanto a ativação (fisiológica) desta enzima ocorria nas mesmas concentrações micromolares de cálcio observadas em mamíferos, observou-se uma diferença na modulação farmacológica pela tapsigargina, um inibidor específico das Ca^{2+}-ATPases de Retículo Endo ou Sarcoplasmático (*Sarcoendoplasmic Reticulum* Ca-ATPase ou SERCA) (Noël et al., 2001; Cunha, Reis & Noël, 1996). A presença de SERCA em *S. mansoni* foi mais tarde comprovada pela clonagem de um gene codificando uma proteína (SMA1) com 67% de homologia com as SERCAs humanas (De Mendonça et al., 1995). O papel fisiológico das SERCAs em *S. mansoni* foi confirmado quando um clone do cDNA de uma segunda SERCA (SMA2) foi expresso em leveduras deficientes em (Ca^{2+}-Mg^{2+})-ATPase, restaurando sua capacidade de seqüestrar cálcio (Talla et al., 1998).

Assim como nos mamíferos, detectou-se em *S. mansoni* a presença de uma segunda atividade (Ca^{2+}-Mg^{2+})-ATPásica, resistente a tapsigargina, que é classicamente atribuída à presença de uma Ca^{2+}-ATPase da membrana plasmática (*Plasma Membrane Ca-ATPase* ou PMCA) (Cunha, Reis & Noël, 1996). Alternativamente, esta Ca^{2+}-ATPase poderia corresponder à SMA3, uma Ca^{2+}-ATPase presente no tegumento de *S. mansoni* (Da'dara et al., 2001) e com grande homologia (40%-50% de identidade) com a família de Ca^{2+}-ATPases da via secretória (*Secretory Pathway Ca-ATPases* ou SPCA), possivelmente localizada em um subcompartimento do aparelho de Golgi.

Canais de Cálcio

Membrana Plasmática: canais de cálcio dependentes de voltagem (VOCC)

Canais de cálcio dependentes de voltagem (*Voltage Operated Calcium Channels* – VOCC), presentes na membrana plasmática, intermediam o influxo de cálcio em resposta à despolarização, permitindo assim o acoplamento entre alterações de potencial de membrana e diversos eventos celulares, como a contração muscular. Existem vários tipos de canais de cálcio ativados por alta voltagem, classificados farmacologicamente em pelo menos cinco subclasses: tipos L, N, P, Q e R (Spedding & Paoletti, 1992). Em vertebrados, os canais de tipo L, predominantes na musculatura lisa, são bloqueados por diidropiridinas e verapamil, enquanto os outros canais são insensíveis a estas moléculas, mas bloqueados por diversas toxinas.

Há evidências de que os VOCCs exercem um papel no controle da musculatura somática em esquistossomas e em outros platelmintos. A despolarização produzida por altas concentrações de K^{+}

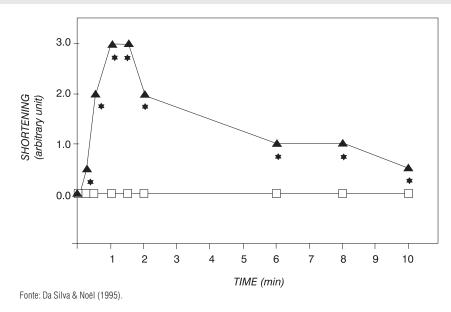
extracelular induz a contração muscular de vermes *in vitro* (Fetterer, Pax & Bennett, 1980) e este efeito é bloqueado por diidropiridinas. Neste modelo experimental, não há como saber se a despolarização induz diretamente um influxo de cálcio na célula muscular ou se a resposta é intermediada pela liberação pré-sináptica de algum neurotransmissor. Como a despolarização produz também a contração de fibras musculares isoladas (Day, Bennett & Pax 1994; Day et al., 2000), a explicação mais plausível é de que a despolarização produziu a abertura dos VOCCs presentes na membrana plasmática das fibras musculares e, conseqüentemente, a entrada de cálcio extracelular. O bloqueio deste efeito pela diidropiridina nicardipina favorece ainda mais tal interpretação (Day et al., 1994; Day et al., 1994). Dados mais recentes de biologia molecular confirmaram a presença de VOCCs em *S. mansoni*. De fato, três cDNAs de subunidade $\alpha 1$ de canais de cálcio ativados por alta voltagem foram clonados (Kohn et al., 2001a.), sendo um do tipo L, sensível às diidropiridinas. É interessante notar que o efeito contrativo que o praziquantel exerce sobre o verme adulto *in vitro*, cuja componente tônica é bloqueada na ausência de cálcio externo ou na presença de verapamil (Da Silva & Noël, 1995; Pax, Bennett & Fetterer, 1978), é atribuído à modulação da subunidade β deste canal de cálcio do tipo L, levando à abertura do mesmo (Kohn et al., 2001b, 2003). Desta forma, o canal de cálcio do tipo L seria o receptor farmacológico do praziquantel, pelo menos no que diz respeito ao seu efeito sobre a musculatura do verme, como sugerido pelos experimentos descritos a seguir.

Na concentração de 1 μM, alcançada no plasma após uma dose terapêutica (Andrews, 1981), o praziquantel produz um encurtamento rápido, intenso e mantido do verme *in vitro* (Pax, Bennett & Fatterer, 1978; Figura 6C), o que leva à paralisia espástica do verme (Figura 8B). A hipótese de relação causa-efeito entre contração da musculatura longitudinal do verme e perda de motilidade é reforçada pela cinética idêntica não somente do efeito como também da sua reversibilidade, depois da retirada do praziquantel (Da Silva & Noël, 1995). Na ausência de cálcio no meio de incubação, ou na presença de verapamil, um bloqueador de canais de cálcio do tipo L, o efeito contrativo do praziquantel é somente transitório (Figura 13). Desta forma, concluiu-se que a contração induzida pelo praziquantel é de natureza bifásica, já que o componente fásico não depende da entrada de cálcio no verme, enquanto o componente tônico depende desta entrada de cálcio (Da Silva & Noël, 1995; Pax, Bennett & Fetterer, 1978). A contração fásica poderia resultar da liberação de cálcio de um estoque intracelular presente na fibra muscular (ver próxima subseção, Retículo Endoplasmático: RyR e IP3R) ou da entrada de cálcio na fibra muscular, a partir de um pool extracelular ('intraverme', de tamanho limitado) (Da Silva & Noël, 1995).

No entanto, a contração tônica, de forma clássica, seria sustentada pela entrada de cálcio extracelular, de forma contínua, já que este *pool* extracelular seria alimentado pelo cálcio presente no meio de incubação, através de canais de cálcio do tipo L existentes na membrana plasmática das fibras musculares. Os achados recentes do grupo de Greenberg apontam nesta direção, agora de forma muito mais direta e convincente. Estes autores clonaram a subunidade β de um canal de cálcio voltagem-dependente (VOCC) do tipo L, em *S. mansoni*, e identificaram diferenças estruturais em relação à subunidade β presente em mamíferos, aparentemente responsáveis por uma forte diminuição da amplitude da corrente, como indicado por experimento de coexpressão com subunidades $\alpha 1$ de mamífero (Kohn et al., 2001b). É a falta de duas serinas altamente conservadas no domínio de interação beta (BID) que seria responsável por esta diminuição

de condutância do canal, assim como pela sensibilidade ao efeito do praziquantel, que é capaz de reverter parcialmente esta queda de condutância (Kohn et al., 2003). Nota-se que foi descoberta uma segunda subunidade β em *S. mansoni*, que, à imagem das subunidades de mamíferos, contém as duas serinas críticas no domínio BID, aumenta a corrente de cálcio quando coexpressa com a subunidade α1 de mamífero e não confere sensibilidade ao praziquantel (Kohn et al., 2003).

Figura 13 – Cinética do efeito contrativo do praziquantel sobre *Schistosoma mansoni*, na ausência de cálcio externo. Após 15 minutos de incubação em solução fisiológica livre de cálcio, foi adicionado 1 μM de praziquantel (▲) ou salina (□) a vermes machos adultos. Para detalhes do modelo experimental, ver descrição no Quadro 1 (método 2)

Fonte: Da Silva & Noël (1995).

Desta forma, teria sido finalmente elucidado o mecanismo molecular da ação do praziquantel, pelo menos no que diz respeito ao seu efeito sobre a musculatura do verme. Curiosamente, porém, o praziquantel não contrai a fibra muscular 'esfiapada', em cultura, apesar de esta apresentar contrações, induzidas pela despolarização, que são bloqueadas pela diidropiridina nicardipina (Day et al., 1994). Esta aparente contradição poderia agora ser explicada caso as fibras esfiapadas expressassem a segunda isoforma da subunidade β, parecida com a subunidade de mamífero e, portanto, insensível a este fármaco.

Retículo Endoplasmático: RyR e IP3R

Em mamíferos (e muitos invertebrados), a membrana celular não é a única fonte de cálcio 'desencadeador de sinal' (*triggering calcium*). De fato, a maioria das células desenvolveu uma via adicional para gerar sinais cálcicos, localizados e rápidos, mediante envolvimento de organelas intracelulares especializadas em estocar/liberar este segundo mensageiro intracelular (Putney, 1999; Fill & Copelo, 2002). As principais organelas são o retículo endoplasmático e o retículo sarcoplasmático (no músculo estriado), os quais possuem dois tipos de canais liberadores de cálcio que apresentam uma grande homologia estrutural (Fill & Copelo, 2002): os receptores da rianodina (RyR), assim chamados por serem sensíveis a este alcalóide, e os receptores do 1,4,5-inositol trifosfato (IP_3R).

- RyR

Apesar de a musculatura de *S. mansoni* possuir um retículo endoplasmático relativamente pouco denso (Silk & Spence, 1969, vide parágrafo II), como o músculo liso de animais superiores, a participação de estoques intracelulares de cálcio na contração muscular deste parasito foi inicialmente sugerida pela caracterização de uma Ca^{2+}-ATPase do tipo SERCA (ver item CA^{2+}-ATPase). Mais recentemente, pôde-se caracterizar a presença de sítios específicos de ligação para a [^{3}H]-rianodina com sensibilidade semelhante àquela dos RyR de mamíferos (Silva et al., 1998). Estes sítios apresentavam características próprias de RyR, já que a ligação da [^{3}H]-rianodina era modulada pela cafeína e a rianodina induzia a contração de vermes adultos, *in vitro*. Estes dados foram corroborados por Day et al. (Day et al., 2000), que mostraram que a cafeína, um agonista de RyR, era capaz de contrair fibras musculares isoladas de vermes adultos. Assim, ficou demonstrado que existem RyR funcionais em *S. mansoni* e que o retículo endoplasmático estoca quantidades suficientes de Ca^{2+} para exercer um papel fisiológico na contração muscular do verme adulto. Outrossim, a recente análise do transcriptoma de *S. mansoni* (Verjovski-Almeida et al., 2003) permitiu identificar duas seqüências de etiquetas de regiões codantes (EST) apresentando homologia com a isoforma 3, 'cerebral' (SmAE 704945.1), e a isoforma 2, 'cardíaca' (SmAE 600004.1), do receptor da rianodina.

- IP3R

Os receptores de inositol trifosfato (IP3R) se diferenciam dos RyR por não serem sensíveis à rianodina e à cafeína e necessitarem de 1,4,5-IP_3, além de cálcio, para serem ativados (abertos). Em *S. mansoni*, há pouca evidência da presença deste tipo de canais de cálcio, a não ser a detecção de uma (fraca) ligação específica de [^{3}H]- IP_3 em frações subcelulares de verme adulto (dados não publicados do laboratório), a demonstração da presença de uma via de sinalização envolvendo fosfoinositídeos no verme (Wiest et al., 1992) e uma seqüência de etiqueta de região codante (SmAE 706881.1) compatível com a expressão de um IP_3R do tipo 1 ou 2 (Verjovski-Almeida et al., 2003).

Canais de Potássio Ativados por Cálcio: KCa

Estudos de *patch-clamp* realizados em fibras musculares isoladas de verme adulto demonstraram a presença de um canal de potássio de grande condutância, ativado pela presença de Ca^{2+} intracelular na faixa de 0,1-1 μM (Blair et al., 1991). Esse tipo de canal, já descrito numa grande variedade de organismos filogeneticamente distantes, poderiam estar envolvidos intimamente na atividade muscular rítmica e espontânea de *S. mansoni*, que parece ser miogênica (Pax et al., 1996). De fato, em músculo liso de vertebrados, tais canais controlariam a atividade elétrica de ondas lentas: já que níveis elevados de cálcio intracelular ativam estes canais, eles poderiam ser responsáveis pelo fim da entrada de cálcio via VOCCs, ao repolarizar a célula e, assim, participar de seu relaxamento.

Outro aspecto muito interessante da descoberta reside na possibilidade de haver interação fisiológica entre estes canais K_{ca}, os canais de cálcio dependentes da voltagem (VOCC), ambos presentes na membrana plasmática, e os canais de cálcio ativados por rianodina (RyR), presentes no retículo endoplasmático. Este tipo de interação, facilitada pela próxima localização espacial da membrana plasmática e do retículo endoplasmático no músculo liso, levaria à constituição de uma unidade funcional responsável pelo controle do tônus muscular, como foi proposto para o caso de artérias e certos músculos lisos não

vasculares de mamíferos (Jaggar et al., 1998). Extrapolando esta unidade funcional para o caso de *S. mansoni* (Figura 12), poder-se-ia imaginar a seguinte seqüência de eventos: o cálcio extracelular, que entra via VOCC e, portanto, depende da despolarização da membrana plasmática, ativa os RyR, os quais são responsáveis pela liberação de *quanta* de cálcio de Ca^{2+} (*Ca^{2+} sparks*) por um mecanismo conhecido como liberação de cálcio induzida pelo próprio cálcio (*Ca^{2+} -induced, Ca^{2+} release*). Devido à proximidade do retículo endoplasmático e da membrana plasmática em músculo liso, estes *quanta* de Ca^{2+} ativam os K_{Ca}, levando a uma corrente transitória de saída de K^+, classicamente denominada de corrente de saída transitória espontânea (*Spontaneous Transient Outward Current* ou STOC). Esta repolarização da célula inibe a abertura dos VOCCs e a entrada de Ca^{2+} na célula. Assim sendo, existiria um ciclo de eventos auto-regulados que controlam a contratilidade da célula muscular.

Além destes canais de K^+ ativados por cálcio, duas correntes de K^+ ativadas por voltagem foram descritas em fibras musculares do verme adulto: uma semelhante às correntes retificadoras presentes em células musculares de praticamente todos os organismos eucarióticos e outra semelhante às correntes A, descritas em vários músculos (Pax et al., 1996). Infelizmente, não há como especular sobre a função destas correntes, no momento.

Proteínas Ligantes de Cálcio

Em mamíferos, há dois tipos de proteínas (intracelulares) ligantes de cálcio que participam do controle da homeostasia do cálcio: aquelas que atuam como estoques intracelulares de cálcio, como a parvalbumina, e aquelas que evoluíram para funcionar como proteínas reguladoras de processos específicos, como a troponina C.

Em *S. mansoni* adulto, diferentes proteínas ligantes de cálcio foram reportadas (Figura 12), a começar pela calmodulina (CaM), uma proteína citossólica de configuração EF (*EF-hand*), que é a parceira onipresente do cálcio em diversas vias enzimáticas (Thompson et al., 1986; SmAE C600256.1) (ver Verjovski-Almeida et al., 2003). Uma segunda proteína com configuração EF, a Sm20, tem grande homologia com a calmodulina e poderia ser o equivalente funcional das proteínas ligantes de cálcio solúveis do retículo, presentes em moluscos e crustáceos, onde atuaria como estoque de cálcio para o músculo, no qual é majoritariamente expressa (Stewart, Smith & Havercroft, 1992). A calreticulina, uma proteína que não possui a configuração EF e se encontra normalmente no retículo endoplasmático, foi também descrita em *S. mansoni* (Sm58), mas parece estar principalmente expressa no epitélio do trato digestivo e nos órgãos genitais onde teria um papel na proliferação celular (Khalife et al., 1994). A análise do transcriptoma de *S. mansoni* (Verjovski-Almeida et al., 2003) identificou um EST (seqüência de etiqueta de região codante: SmAE 710732.1) correspondendo à isoforma 1 da calsequestrina, proteína ligante de cálcio presente em músculo esquelético de mamíferos (Putney, 1999). Pode-se ainda citar, no grupo das proteínas reguladores da contração dependentes de cálcio, uma proteína de 38,3 kDa, aparentada à calponina, encontrada na musculatura lisa de *S. japonicum* adulto, que está associada aos miofilamentos e ao retículo endoplasmático (Yang et al., 1999).

SISTEMA NEUROMUSCULAR COMO ALVO PARA FÁRMACOS ESQUISTOSSOMICIDAS: PERSPECTIVAS

A descoberta e o desenvolvimento da maioria dos fármacos utilizados no tratamento das doenças tropicais foram incentivados pelas necessidades coloniais, durante a primeira parte do século XX. À medida que os interesses ocidentais se afastavam dessas regiões tropicais, as doenças próprias dos trópicos foram progressivamente negligenciadas, principalmente porque não ofereciam retorno financeiro suficiente para que a indústria farmacêutica investisse em pesquisa e desenvolvimento (Trouiller et al., 2002). Assim, somente 1% dos 1.393 novos fármacos aprovados entre 1975 e 1999 tratam especificamente de doenças tropicais e todos foram desenvolvidos com participação do setor público (Trouiller et al., 2002). Por esta razão, as doenças infecciosas tropicais continuam causando morbidade e mortalidade significativas, principalmente nos países em desenvolvimento, apesar dos progressos realizados no conhecimento básico das doenças infecciosas (Trouiller et al., 2002). A falha do sistema em vigor para desenvolver novos fármacos de interesse para os países em desenvolvimento foi recentemente enfatizada pela organização não governamental *Médecins sans frontières*, que concluiu haver necessidade de novas iniciativas, envolvendo órgãos públicos, instituições de pesquisa e unidades de produção dos países diretamente interessados, como é o caso do NDGi (Neglected Diseases Group Initiative), criado oficialmente em julho de 2003.

No caso da esquistossomose, a Organização Mundial da Saúde (OMS) incluiu esta parasitose na sua lista das dez doenças parasitárias prioritárias, havendo destaque quanto à necessidade de pesquisa de novos fármacos (Remme et al., 2002; Fenwick et al., 2003) (ver capítulo 29 deste livro – Terapêutica Clínica na Esquistossomose Mansoni –, inserido na Parte IV – Tratamento).

De forma geral, o ponto de partida de qualquer programa de desenvolvimento de fármacos visa identificar uma molécula ativa inicial (*hit*).[4] Tais moléculas 'iniciais' podem ser geradas de várias formas, que podem ser agrupadas em duas estratégias, de filosofias distintas (Figura 14):

- Métodos baseados no 'acaso inteligente' (o *serendipity* dos ingleses) e na força (bruta, dirão alguns) dos métodos de química combinatorial e *screening* farmacológico de alto débito (*high-throughput screening*). Estes métodos não requerem nenhuma informação prévia sobre o receptor ou o ligante endógeno e, devido ao alto custo dos equipamentos robotizados envolvidos, é desenvolvido exclusivamente nas grandes indústrias farmacêuticas, ou em algumas empresas prestadores de serviços especializados;
- Métodos racionais, baseados no conhecimento, que se baseiam em estruturas descritas na literatura científica e/ou de patentes, em ligantes endógenos ou em dados estruturais dos receptores. Estes métodos não são exclusivos das grandes indústrias farmacêuticas e podem ser empregados em ambientes universitários, já que são mais 'artesanais' e demandam, sobretudo, capacidade intelectual (Noël, Mendonça-Silva & Quintas, 2001). Neste caso, a estratégia de desenho molecular destas moléculas iniciais (*hit*) fundamenta-se no prévio conhecimento do processo fisiopatológico e na conseqüente eleição do alvo terapêutico mais adequado (Barreiro & Fraga, 2003).

---

[4] *Hit*: molécula ativa, com certa seletividade em ensaios de *binding*, que apresenta uma atividade acima de um limite pré-estabelecido em um determinado ensaio.

Figura 14 – Desenvolvimento de novos fármacos esquistossomicidas: necessidade e estratégias

Fonte: Bleicher et al. (2003). Reproduzida com permissão da *Nature Reviews Drug Discovery* (www.nature.com/reviews), 2(5): 369-378, copyright (2003), Macmillan Magazines Ltd.

Após obtenção das moléculas iniciais, deve-se prosseguir com a geração de uma molécula-protótipo (*lead compound*). Este processo envolve várias etapas e um constante diálogo entre química e farmacologia, para sua otimização. Em seguida, a molécula-protótipo otimizada deverá atravessar o caminho, longo e dispendioso, da toxicologia e do desenvolvimento clínico.

Havendo reconhecida necessidade de se desenvolver novos fármacos esquistossomicidas, serão tecidos alguns comentários sobre a oportunidade de se considerar o sistema neuromuscular de *S. mansoni* adulto, cujo funcionamento foi assunto deste capítulo, como alvo terapêutico. A idéia, regularmente expressa, de que o sistema neuromuscular do verme seria um alvo particularmente atrativo (Geary et al., 1992) para substâncias esquistossomicidas pressupõe um conhecimento profundo da fisiologia da neurotransmissão e contração neste parasito. *A priori*, o alvo ideal seria constituído por um receptor peculiar, próprio ao parasito, o que deixaria augurar uma seletividade de ação, com pouco efeito adverso para o hospedeiro. Tal situação é exemplificada pelo sucesso da ivermectina como nematicida eficaz e pouco tóxico por possuir relativa seletividade para bloquear um canal de cloreto ativado por glutamato, inexistente nos mamíferos (Arena et al., 1995).

Por analogia, pode-se entender por que o sistema peptidérgico (ver seção Neurotransmissores Envolvidos no Controle da Atividade Motora, subseção Neuropeptídeos) emergiu como uma fonte promissora para novos anti-helmínticos (Day & Maule, 1999). Se por um lado o alvo farmacodinâmico é atraente, por ser

próprio do parasito, por outro há de se esperar empecilhos farmacocinéticos, como baixa biodisponibilidade e curto tempo de meia-vida, característicos dos peptídeos administrados por via oral (Goldberg & Gomez-Orellana, 2003). Poder-se-ia pensar em duas alternativas para contornar esta limitação intrínseca: uma, própria, da química medicinal, seria sintetizar análogos (agonistas ou antagonistas) não peptídicos; a outra, própria da biofarmácia, seria adotar uma formulação farmacêutica modificada, capaz de aumentar a biodisponibilidade de macromoléculas e/ou uma via alternativa de administração, como a nasal ou a transdérmica (Goldberg & Gomez-Orellana, 2003).

Foi visto que *S. mansoni* possui um sistema de neurotransmissão e controle da atividade motora qualitativamente similar ao dos mamíferos, o que não deixou de surpreender, tendo em vista a enorme distância filogenética entre esses animais. Felizmente, o estudo detalhado da modulação farmacológica dos receptores envolvidos, assim como das proteínas envolvidas no controle da homeostasia do cálcio, mostrou que existem diferenças entre parasito e hospedeiro, que poderiam ser levadas em conta para síntese de moléculas relativamente específicas. A recente caracterização de receptores glutamatérgicos e de uma via de transmissão GABAérgica em *S. mansoni* (ver seção Neurotransmissores Envolvidos no Controle da Atividade Motora, subseções Glutamato e GABA) os tornam possíveis alvos de agentes esquistossomicidas, ainda mais depois de se ter mostrado que agonistas e/ou antagonistas destes sistemas produziram alterações do padrão de atividade motora do verme. No caso dos receptores para aminoácidos, os quais estão presentes também no sistema nervoso central do hospedeiro, uma segunda esperança de alcançar a desejada seletividade pode embasar-se na localização intravascular (sistêmica) do parasito adulto. Para ilustrar este conceito, considere-se o ácido caínico (uma neurotoxina) como exemplo. Teoricamente, há possibilidade de se alcançar altas concentrações plasmáticas (que estarão, portanto, em contato direto com o parasito) de um derivado do ácido caínico, ao mesmo tempo em que se evita sua distribuição no sistema nervoso central do hospedeiro, onde poderia provocar morte neuronal. Este objetivo poderia ser alcançado ao se administrar um éster (ou diéster), que facilitaria a absorção, por mascarar as funções ácidas, mas seria rapidamente metabolizado, pelas esterases plasmáticas, em ácido caínico. Este último, sendo demais hidrofílico para atravessar a barreira hematoencefálica, não alcançaria os neurônios do hospedeiro, deixando assim de apresentar toxicidade.

Outro alvo molecular a ser (re)avaliado, em função da recente caracterização de uma transmissão GABAérgica (Mendonça-Silva et al., 2004), é o receptor benzodiazepínico, sítio alostérico modulador do receptor $GABA_A$. Ligantes deste receptor poderiam ter efeito esquistossomicida, pois foi demonstrado que um derivado benzodiazepínico (3-metil clonazepam) se ligava a sítios específicos no verme e possuía atividade contrativo parecida com a do praziquantel, além da atividade letal para *S. mansoni* (Pax, Bennett & Fetterer, 1978). Em função deste efeito esquistossomicida, poder-se-ia considerar que este alvo molecular está validado, o que constitui uma etapa importante do processo de farmacogenia (ver figura 14). O fato de se terem evidenciado sítios de ligação específicos para o [^{3}H]-flunitrazepam com perfil farmacológico diferente do receptor benzodiazepínico central de mamífero (Mendonça-Silva et al., 2004) suscita a possibilidade de síntese de moléculas relativamente seletivas para o receptor de *S. mansoni*. Aqui, também, a preocupação com aspectos farmacocinéticos (biodisponibilidade e barreira hematoencefálica) parece essencial para se assegurar o sucesso terapêutico.

RESUMO

- Sistema nervoso de *Schistosoma mansoni* – o sistema nervoso de *S. mansoni* funcionaria não só como um sistema nervoso *per se*, havendo liberação de neurotransmissores em sinapses clássicas, mas também como um sistema parácrino, com a liberação de substâncias moduladoras no espaço extracelular próximo de células e órgãos-alvo.
- Musculatura corpórea de *S. mansoni* – o verme adulto macho possui uma musculatura corporal bem desenvolvida, organizada em três camadas: debaixo do tegumento, encontram-se fibras circulares delgadas; logo abaixo, encontram-se fibras longitudinais, mais espessas e fusiformes, que constituem uma camada muscular compacta; debaixo desta camada, encontram-se umas poucas fibras diagonais. O músculo é do tipo liso com retículo endoplasmático pouco desenvolvido, mas funcional.
- Atividade motora de *S. mansoni* – os vermes adultos machos apresentam uma variedade de movimentos, entre os quais rápidos encurtamento e prolongamento do corpo, movimentos ondulatórios e ondas peristálticas propagadas ao longo do corpo, no eixo anterior/posterior.
- Neurotransmissores em *S. mansoni* – nos platelmintos, de forma geral, existiria um sistema de comunicação rápida envolvendo moléculas de pequeno peso molecular (aminas biogênicas, acetilcolina e aminoácidos) e um sistema mais lento, e evolutivamente mais primitivo, que usa peptídeos como mensageiros. O estatuto de candidato a neurotransmissor baseia-se em evidências neuroanatômicas e fisiológicas/farmacológicas. As evidências neuroanatômicas são obtidas por experimentos de citoquímica e imunolocalização que fazem uso de anticorpos e técnicas microscópicas, ao passo que as evidências farmacológicas são obtidas por intermédio de diversos modelos experimentais que permitem avaliar o efeito de substâncias exógenas sobre a motilidade ou contração/relaxamento da musculatura do verme ou até de fibras musculares dispersas em cultura.
- Homeostasia do cálcio em *S. mansoni* – este parasito controla sua concentração citossólica de cálcio de forma qualitativamente similar à dos mamíferos, o que não deixa de surpreender, tendo em vista a enorme distância filogenética entre platelmintos e vertebrados atuais. Em função desta conclusão, parece que os sistemas atuais de controle da homeostasia do cálcio foram selecionados muito cedo durante o processo evolutivo e que a presença de diferentes isoformas para exercer um mesmo trabalho pode ser considerada uma vantagem filogenética.
- Sistema neuromuscular como alvo para fármacos esquistossomicidas – como o sistema neuromuscular do verme é um alvo atrativo para substâncias esquistossomicidas, há necessidade de se conhecer mais profundamente a fisiologia da neurotransmissão e contração neste parasito. De fato, a estratégia de desenho molecular de moléculas ativas iniciais (*hit*) fundamenta-se no prévio conhecimento do processo fisiopatológico e na conseqüente eleição do alvo terapêutico mais adequado. *A priori*, o alvo ideal seria constituído por um receptor peculiar, próprio ao parasito, o que favoreceria uma seletividade de ação com pouco efeito adverso para o hospedeiro, como sugerido para os receptores de neuropeptídeos. No entanto, o estudo detalhado da modulação farmacológica dos receptores envolvidos no controle da atividade motora mostrou que existem diferenças entre os receptores do parasito e do hospedeiro que poderiam ser levadas em conta para síntese de moléculas relativamente específicas.

PERSPECTIVAS

Com o reconhecimento da necessidade em desenvolver novos fármacos esquistossomicidas, espera-se que haja incentivos públicos para aprofundar o conhecimento da fisiologia da neurotransmissão e contração neste parasito. De fato, a estratégia de desenho molecular de novas moléculas ativas fundamenta-se no conhecimento do processo fisiopatológico e na conseqüente eleição do alvo terapêutico mais adequado. Outrossim, tais estudos sobre a neurobiologia de platelmintos atuais podem fornecer informações valiosas quanto à origem evolucionária do sistema nervoso e sua relação com o sistema muscular.

REFERÊNCIAS

ANDERSSON, K. E. Effects of calcium and calcium antagonists on the excitation-contraction coupling in striated and smooth muscle. *Acta Pharmacologica et Toxicologica*, 43, supl. 1: 5-14, 1978.

ANDREWS, P. A summary of the efficacy of praziquantel against schistosomes in animal experiments and notes on its mode of action. *Arzneimittel-Forschung*, 31: 538-541, 1981.

ARENA, J. P. et al. The mechanism of action of avermectins in Caenorhabdistis elegans: correlation between activation of glutamate-sensitive chloride current, membrane binding, and biological activity. *The Journal of Parasitology*, 81: 286-294, 1995.

BARKER, L. R.; BUEDING, E. & TIMMS, A. R. The possible role of acetylcholine in *Schistosoma mansoni. British Journal of Pharmacology*, 26: 656-665, 1966.

BARREIRO, E. J. & FRAGA, C. A. M. *Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos*. 1ª reimp. Porto Alegre: Artmed, 2003.

BENNETT, J. & BUEDING, E. Localization of biogenic amines in *Schistosoma mansoni*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 39A: 859-867, 1971.

BENTLEY, G. N. et al. ShAR1a and ShAR1h: novel putative nicotinic acetylcholine receptor subunits from the platyhelminth blood fluke Schistosoma. *Gene*, 329: 27-38, 2004.

BLAIR, K. L. et al. Studies on muscle cells isolated from *Schistosoma mansoni*: a Ca^{2+} -dependent K^{+} channel. *Parasitology*, 102: 251-258, 1991.

BLEICHER, K. H. et al. Hit and lead generation: beyond high-throughput screening. *Nature Review/Drug Discovery*, 2: 369-378, 2003.

BROWN, M. C. et al. An *in vitro* activity monitor for schistosomes: preliminary report. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 67: 369-370, 1973.

BROWNLEE, D. J. & FAIRWEATHER, I. Immunocytochemical localization of glutamate-like immunoreactivity within the nervous system of the cestode Mesocestoides corti and the trematode Fasciola hepatica. *Parasitology Research*, 82: 423-427, 1996.

CAMACHO, M. et al. The amount of acetylcholinesterase on the parasite surface reflects the differential sensitivity of schistosome species to metrifonate. *Parasitology*, 108: 153-160, 1994.

CARAFOLI, E. Intracellular calcium homeostasis. *Annual Review of Biochemistry*, 56: 395-433, 1987.

CARLISLE, S.; WEISBERG, L. S. & BENTLEY, A. G. *Schistosoma mansoni*: morphologic changes induced by maintenance *in vitro. The Journal of Parasitology*, 69: 319-334, 1983.

CUNHA, V. M. N. & NOËL, F. Mg^{2+}-independent Ca^{2+}- stimulated ATPase activity in the tegument of *Schistosoma mansoni*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 21: 449-451, 1988.

CUNHA, V. M. N.; DE SOUZA, W. & NOËL, F. A Ca^{2+}-stimulated, Mg^{2+}-dependent ATPase activity in subcellular fractions from *Schistosoma mansoni*. *FEBS Letters*, 241: 65-68, 1988.

CUNHA, V. M. N.; MEYER-FERNANDES, J. R. & NOËL, F. A (Ca^{2+}-Mg^{2+}) ATPase from *Schistosoma mansoni* is coupled to an active transport of calcium. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 52: 167-174, 1992.

CUNHA, V. M. N.; REIS, J. M. & NOËL, F. Evidence for the presence of two (Ca^{2+}-Mg^{2+}) ATPases with different sensitivities to thapsigargin and cyclopiazonic acid in the human flatworm *Schistosoma mansoni*. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, 114: 199-205, 1996.

DA SILVA, S. P. & NOËL, F. Time-course of the effect of praziquantel on *Schistosoma mansoni* attachment in vitro: comparison with its effects on worm length and motility. *Parasitology Research*, 81: 544-548, 1995.

DA'DARA, A. et al. *Schistosoma mansoni*: molecular characterization of a tegumental Ca-ATPase (SMA3). *Experimental Parasitology*, 98: 215-222, 2001.

DAY, T. A. & MAULE, A. G. Parasitic peptides! The structure and function of neuropeptides in parasitic worms. *Peptides*, 20: 999-1.019, 1999.

DAY, T. A.; BENNETT, J. L. & PAX, R. A. Serotonin and its requirement for maintenance of contractility in muscle fibres isolated from *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 108: 425-432, 1994.

DAY, T. A. et al. Platyhelminth FMRFamide-related peptides (FaRPs) contract *Schistosoma mansoni* (Trematoda Digenea) muscle fibers *in vitro*. *Parasitology*, 109: 455-459, 1994.

DAY, T. A. et al. Cholinergic inhibition of muscle fibres isolated from *Schistosoma mansoni* (Trematoda: Digenea). *Parasitology*, 113: 55-61, 1996.

DAY, T. A. et al. Functional ryanodine receptor channels in flatworm muscle fibres. *Parasitology*, 120: 417-422, 2000.

DE MENDONÇA, R. L. et al. Cloning and characterization of a putative calcium-transporting ATPase gene from *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology,* 72: 129-139, 1995.

ERSPAMER, V. & TESTINI, A. Observations on the release and turnover rate of 5-hydroxytryptamine in the gastrointestinal tract. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 11: 618-623, 1959.

FENWICK, A. et al. Drugs for the control of parasitic diseases: current status and development in schistosomiasis. *Trends in Parasitology*, 19: 509-515, 2003.

FETTERER, R. H.; PAX, R. A. & BENNETT, J. L. *Schistosoma mansoni*: direct method for simultaneous recording of electrical and motor activity. *Experimental Parasitology*, 43: 286-294, 1977.

FETTERER, R. H.; PAX, R. A. & BENNETT, J. L. Praziquantel, potassium and 2,4-dinitrophenol: analysis of their action on the musculature of *Schistosoma mansoni*. *European Journal of Pharmacology*, 64: 31-38, 1980.

FETTERER, R. H.; PAX, R. A. & BENNETT, J. L. Na^{+}-K^{+} transport, motility and tegumental membrane potential in adult male *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 82: 97-109, 1981.

FETTERER, R. H. et al. *Schistosoma mansoni*: physical and chemical factors affecting the mechanical properties of the adult male musculature. *Experimental Parasitology*, 46: 59-71, 1978.

FILL, M. & COPELO, J. A. Ryanodine receptor calcium release channels. *Physiological Reviews*, 82: 893-922, 2002.

FRIPP, P. J. Histochemical localization of esterase activity in schistosomes. *Experimental Parasitology*, 21: 380-390, 1967.

GEARY, T. G. et al. The nervous systems of helminths as targets for drugs. *The Journal of Parasitology*, 78: 215-230, 1992.

GIANUTSOS, G. & BENNETT, J. L. The regional distribution of dopamine and norepinephrine in *Schistosoma mansoni* and *Fasciola hepatica*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 58C: 157-159, 1977.

GOLDBERG, M. & GOMEZ-ORELLANA, I. Challenges for the oral delivery of macromolecules. *Nature Review/ Drug Discovery*, 2: 289-295, 2003.

GUSTAFSSON, M. K. S. Immunocytochemical demonstration of neuropeptides and serotonin in the nervous system of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology Research*, 74: 168-174, 1987.

GUSTAFSSON, M. K. S. et al. Neuropeptides in flatworms. *Peptides*, 23: 2.053-2.061, 2002.

HALTON, D. W. & GUSTAFSSON, M. K. S. Functional morphology of the platyhelminth nervous system. *Parasitology*, 113: S47-S72, 1996.

HAMDAN, F. F. & RIBEIROS, P. Characterization of a stable form of tryptophan hydroxylase from the human parasite *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Biological Chemistry*, 274: 21.746-21.754, 1999.

HAMDAN, F. F. et al. A novel *Schistosoma mansoni* G protein-coupled receptor is responsive to histamine. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 119: 75-86, 2002.

HANSON, E. D. *Animal Diversity*. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1972.

HILLMAN, G. R. & SENFT, A. W. Schistosome motility measurements: response to drugs. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 185: 177-184, 1973.

HOCKLEY, D. J. Ultrastructure of the tegument of *Schistosoma*. *Advances in Parasitology*, 11: 233-305, 1973.

JAGGAR, J. H. et al. Ca^{2+} channels, ryanodine receptors and Ca^{2+}-activated K^{+} channels: a functional unit for regulating arterial tone. *Acta Physiologica Scandinavica*, 164: 577-587, 1998.

KHALIFE, J. et al. Characterization and localization of *Schistosoma mansoni* calreticulin Sm58. *Parasitology,* 108: 527-532, 1994.

KOHN, A. B. et al. Structure of three high voltage-activated calcium channel alpha1 subunits from *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 123: 489-497, 2001a.

KOHN, A. B. et al. Schistosome calcium channel β subunit: unusual modulatory effects and potential role in the action of the antischistosomal drug praziquantel. *The Journal of Biological Chemistry*, 276: 36.873-36.876, 2001b.

KOHN, A. B. et al. Specific sites in the beta interaction domain of a schistosome ca^{2+} channel β subunit are key to its role in sensitivity to the anti-schistosomal drug praziquantel. *Parasitology*, 127: 349-356, 2003.

MAIR, G. R. et al. Muscling in on parasitic flatworm. *Parasitology Today*, 14: 73-76, 1998.

MAIR, G. R. et al. A confocal microscopical study of the musculature of adult *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 121: 163-170, 2000.

MARKS, N. J. et al. Comparative analyses of neuropeptide F (NPF) and FaRP-immunoreactivities in *Fasciola hepatica* and *Schistosoma mansoni* spp. *Parasitology*, 110: 371-381, 1995.

MELLIN, T. N. et al. Neuropharmacology of the parasitic trematode, Schistosoma mansoni. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 32: 83-93, 1983.

MENDONÇA-SILVA, D. L.; PESSÔA, R. F. & NOËL, F. Evidence for the presence of glutamatergic receptors in adult *Schistosoma mansoni. Biochemical Pharmacology*, 64: 1.337-1.344, 2002.

MENDONÇA-SILVA, D. L. et al. Characterization of a GABAergic neurotransmission in adult *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 129(2): 1-10, 2004.

MILLER, C. L. et al. *Schistosoma mansoni*: L-glutamate-induced contractions in isolated muscle fibers; evidence for a glutamate transporter. *Experimental Parasitology*, 84: 410-419, 1996.

NECHAY, B. R.; HILLMAN, G. R. & DOTSON, M. J. Properties and drug sensitivity of adenosine triphosphatase from *Schistosoma mansoni. The Journal of Parasitology*, 66: 596-600, 1980.

NOËL, F. & PARDON, R. S. Vanadate sensitivity of Na^+,K^+-ATPase from *Schistosoma mansoni* and its modulation by Na^+, K^+ and Mg^+. *Life Sciences*, 44: 1.677-1.683, 1989.

NOËL, F. & SOARES DE MOURA, R. *Schistosoma mansoni*: preparation and characterization of ($Na^+ + K^+$)-ATPase from tegument and carcass. *Experimental Parasitology*, 62: 298-307, 1986.

NOËL, F.; MENDONÇA-SILVA, D. L. & QUINTAS, L. E. M. Radioligand binding assays in the drug discovery process: high throughput screening and the risk of false negative. *Arzneimittel Forschung Drug Research*, 51: 169-173, 2001.

NOËL, F. et al. Control of calcium homeostasis in *Schistosoma mansoni. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96, supl.: 85-88, 2001.

PARDON, R. S. & NOËL, F. Heterogeneity of ouabain binding sites in *Schistosoma mansoni*: first evidence for the presence of two ($Na^+ + K^+$) ATPase isoforms in platyhelminths. *Biochemical Pharmacology*, 47: 331-336, 1994.

PAX, R. A. & BENNETT, J. L. Neurobiology of parasitic platyhelminths: possible solutions to the problems of correlating structure with function. *Parasitology*, 102: 531-539, 1991.

PAX, R. A. & BENNETT, J. L. Neurobiology of parasitic flatworms: how much "neuro" in the biology? *The Journal of Parasitology*, 78: 194-205, 1992.

PAX, R. A.; BENNETT, J. L. & FETTERER, R. A benzodiazepine derivative and praziquantel: effects on musculature of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum*. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 304: 309-315, 1978.

PAX, R. A.; SIEFKER, C. & BENNETT, J. L. *Schistosoma mansoni:* differences in acetylcholine, dopamine and serotonin control of circular and longitudinal parasite muscle. *Experimental Parasitology*, 58: 314-324, 1984.

PAX, R. A. et al. Neuromuscular physiology and pharmacology of parasitic flatworms. *Parasitology*, 113, supl.: S83-S96, 1996.

PESSÔA, R.F.; CASTRO, N.G. & NOËL, F. Binding of [3H]MK-801 in subcellular fractions of S*chistosoma mansoni*: evidence for interaction with nicotinic receptors. *Biochemical Pharmacology,* 69: 1509-1516, 2005.

PUTNEY, J. W. Calcium. In: SIEGEL, G. J. et al. *Basic Neurochemistry: molecular, cellular and medical aspects.* 6. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1999.

REMME, J. H. et al. Strategic emphases for tropical diseases research: a TDR perspective. *Trends in Parasitology*, 18: 421-426, 2002.

REY, L. *Bases da Parasitologia Médica*. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002

RIZZUTO, R.; POZZAN, T. & CARAFOLI, E. Ca2+ on the move:ways and means to translate a multifarious signal. *Trends in Pharmacological Sciences*, 23: 348-350, 2002.

SILK, M. H. & SPENCE, I. M. Ultrastructural studies of the blood fluke S*chistosoma mansoni*. II. the musculature. *The South African Journal of Medical Sciences*, 34: 11-20, 1969.

SILVA, C. L. et al. Evidence for ryanodine receptors in *Schistosoma mansoni*. *Biochemical Pharmacology*, 56: 997-1003, 1998.

SKELLY, P. J. et al. Cloning and characterization of a muscle isoform of a Na^+,K^+-ATPase alpha subunit (SnaK1) from *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 123: 277-284, 2001.

SOARES DE MOURA, R. & ROZENTAL, R. *Schistosoma mansoni*: new method for recording motor activity *in vitro*. *Experimental Parasitology*, 56: 314-317, 1983.

SOLIS-SOTO, J. M. & BRINK, M. D. J. Immunocytochemical study on biologically active neurosubstances in daughter sporocysts and cercariae of *Trichobilharzia ocellata* and *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 108: 301-311, 1994.

SPEDDING, M. & PAOLETTI, R. Classification of calcium channels and the sites of action of drugs modifying channel function. *Pharmacological Reviews*, 44: 363-376, 1992.

STEWART, T. J.; SMITH, A. L. & HAVERCROFT, J. C. Analysis of the complete sequence of a muscle calcium-binding protein of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 105: 399-408, 1992.

SWEADNER, K. J. Isozymes of Na^+, K^+-ATPase. *Biochimica et Biophysica Acta*, 988: 185-220, 1989.

TALLA, E. et al. *Schistosoma mansoni* Ca^{2+}-ATPase SMA2 restores viability to yeast Ca^{2+}-ATPase-deficient strains and functions in calcineurin-mediated Ca^{2+} tolerance. *The Journal of Biological Chemistry,* 273: 27.831-27.840, 1998.

TARRAB-HAZDAI, R. et al. An association between activity of the Na/K-pump and resistance of *Schistosoma mansoni* towards complement-mediated killing. *Parasite Immunology*, 19: 395-400, 1997.

THOMPSON, D. P. et al. Calmodulin: biochemical, physiological, and morphological effects on *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Physiology*, 251: R1.051-R1.058, 1986.

TOMOSKY, T. K.; BENNETT, J. L. & BUEDING, E. Tryptaminergic and dopaminergic responses of *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 190: 260-271, 1974.

TROUILLER, P. et al. Drug development for neglected diseases: a deficient market and a public-health policy failure. *The Lancet*, 359: 2.188-2.194, 2002.

VERJOVSKI-ALMEIDA, S. et al. Transcriptoma analysis of the acoelomate human parasite *Schistosoma mansoni*. *Nature Genetics* 35(2):148-57, 2003.

WIEST, P. M. et al. *Schistosoma mansoni*: characterization of phosphoinositide response. *Experimental Parasitology*, 74: 38-45, 1992.

WILLCOKSON, W. S. & HILLMAN, G. R. Drug effects on the 5-HT response of *Schistosoma mansoni*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 77C: 199-203, 1984.

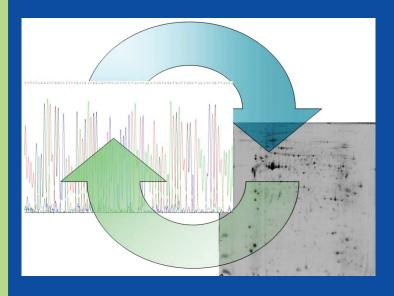
WILLCOKSON, W. S. et al. Effects of acetylcholine mustard analogs on schistosome and vertebrate neuromuscular preparations. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 218: 330-336, 1981.

WOOD, P. J. & MANSOUR, T. E. *Schistosoma mansoni*: serotonin uptake and its drug inhibition. *Experimental Parasitology*, 62: 114-119, 1986.

YANG, W. et al. Molecular characterization of a calponin-like protein from *Schistosoma japonicum*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 98: 225-237, 1999.

7 Genômica e Biologia Molecular de *Schistosoma mansoni*

Guilherme Correa de Oliveira
Frederico G. C. Abath
Gloria Regina Franco

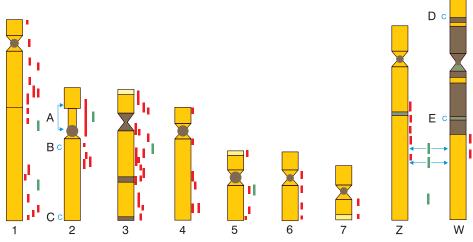
O estudo estrutural do genoma do *Schistosoma mansoni* possibilitou o seqüenciamento parcial do genoma nuclear desta espécie. A disponibilidade da seqüência genômica permitiu a realização de novas abordagens, para o estudo funcional do organismo. Dentre as novas possibilidades estão o transcriptoma e o proteoma. Agora, uma nova fronteira é aberta, o entendimento da fisiologia do parasito do ponto de vista sistêmico. Para este fim, análises computacionais e experimentais, a partir da integração da informação estrutural e funcional, possibilitarão o estudo global da biologia do sistema.

Desde meados da década de 1980 o estudo da biologia molecular do *Schistosoma mansoni* possibilitou a caracterização de um grande número de funções biológicas e moléculas do organismo. Publicaram-se, até hoje, mais de 1.100 trabalhos sobre o assunto. Recentemente, com a era genômica e o seqüenciamento do genoma do parasito, assim como grandes volumes de cDNAs, as abordagens para o estudo molecular terão principalmente uma visão global dos problemas com o uso de metodologias como o estudo do transcriptoma e do proteoma. Espera-se como resultado destes trabalhos que sejam identificados novos alvos para o desenvolvimento de vacinas e drogas para combater a esquistossomose, além de um profundo entendimento de fenômenos biológicos do *S. mansoni*.

Este capítulo relata os principais avanços no estudo molecular do parasito. Inicialmente, com o trabalho tendo por foco as moléculas individuais e mais recentemente, em larga escala. O desenvolvimento científico e tecnológico nesta área é muito rápido, mas pretende-se demonstrar abordagens que serão ainda utilizadas por vários anos.

O GENOMA DE *Schistosoma mansoni*

O tamanho do genoma de *S. mansoni* é de aproximadamente 2,7 x 10^8 pares de base (pb), sendo o conteúdo de guaninas e citosinas (G e C) de aproximadamente 29,4% (Simpson, Sher & McCutchan, 1982; Marx et al., 2000). Este tamanho é de aproximadamente três vezes o de *Caenorhabditis elegans*, duas vezes o de *Drosophila melanogaster* e um décimo do humano. O DNA do parasito não é metilado (Fantappie et al., 2001b). Entre 4% e 8% é composto de DNA altamente repetitivo e 40% de DNA moderadamente repetitivo (Simpson, Sher & McCutchan, 1982). O cariótipo de *S. mansoni* é composto de oito pares de cromossomos (Short & Menzel, 1979), sendo a fêmea heterogamética, com um par sexual heterólogo W e Z (Grossman et al., 1980). O final dos cromossomos contém os telômeros que são repetições da seqüência TTAGGG em humanos e vertebrados (Moyzis et al., 1988; Meyne et al., 1989). Os telômeros foram identificados por técnicas de hibridação em relação a todos os cromossômicos metafásicos do parasito e provavelmente possuem a mesma seqüência que os telômeros humanos (Hirai & LoVerde, 1996).

O cariótipo da espécie é organizado por ordem de tamanho dos cromossomos. Os cromossomos 1, 2, 3, 4 e 5 têm centrômeros subterminais e os cromossomos 6 e 7 apresentam centrômeros submetacêntricos. O cromossomo 8 é metacêntrico. O cromossomo 4 tem um satélite no braço curto (Short & Menzel, 1979). Na Figura 1 verifica-se uma representação dos cromossomos de *S. mansoni*.

Figura 1 – Cariótipo de *Schistosoma mansoni.* Mapa físico de clones de YAC e BACs. As barras em vermelho indicam os clones YAC mapeados. As indicações em azul são: (A), DNA ribosomal (van Keulen et al., 1985); (B), gene p48 (Chen et al., 1992); (C), gene p14 (Hirai et al., 1993); (D), clone de BAC (Jeremias et al., não publicado); e (E), elemento pW1 (Hirai et al., 1993). Em linhas verdes estão mostradas as posições aproximadas de clones de BAC localizados por Les Paslier et al. (2000)

Fonte: adaptada de Tanaka et al. (1995) e Les Paslier et al. (2000).

Um aspecto importante do entendimento da expressão dos genes presentes no genoma do parasito está relacionado à estrutura física dos cromossomos (Davie & Spencer, 1999). Alguns trabalhos já identificaram proteínas que participam deste processo, como as proteínas *high mobility group*, ou HMG, envolvidas no estabelecimento da arquitetura dos cromossomos (Rabelo et al., 1992; Fantappie & Rumjanek, 1994; Grasser,

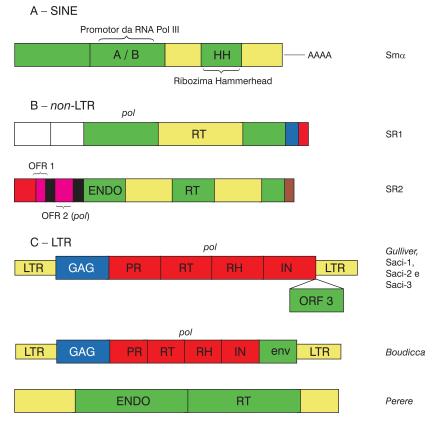
2003). Uma outra proteína descrita que acetila histonas influencia na regulação da estrutura da cromatina (Roth, Denu & Allis, 2001). Uma acetiltransferase funcional de *S. mansoni* denominada GCN5 foi clonada, abrindo uma importante e ainda pouco explorada área de pesquisa sobre esta espécie (De Moraes et al., 2004).

Como mencionado anteriormente, o genoma de *S. mansoni* é rico em elementos repetitivos. Muitos destes elementos são também móveis, isto é, podem se deslocar no genoma. Dentre os elementos repetitivos, um dos mais conhecidos é o complexo de genes codificantes para o RNA ribosomal, repetido aproximadamente cem vezes por genoma haplóide (Simpson et al., 1984a). Cada unidade tem aproximadamente 10.000 pb que codificam para três subunidades altamente conservadas, separadas por segmentos não transcritos denominados espaçadores (van Keulen et al., 1985; Walker et al., 1989; van Keulen et al., 1991). Variações nesta unidade repetitiva têm sido utilizadas para estudos de filogenia entre as diferentes espécies de *Schistosoma* (Lockyer et al., 2003). Um outro elemento contendo uma repetição de 62 pb foi observado em vários transcritos do parasito e, quando utilizado como sonda, foi capaz de se hibridar com vários fragmentos do genoma, mostrando sua ampla distribuição (Spotila, Rekosh & LoVerde, 1991). Este elemento repetitivo também está presente no genoma mitocondrial, possível resultado de uma transferência do núcleo (Pena et al., 1995). Vários outros elementos repetitivos já foram identificados. Entre estes elementos, um é aparentemente traduzido em proteínas que demonstram reatividade imunológica cruzada (Smith, Huggins & Havercroft, 1992) e outro, de 121 pb, o que representa aproximadamente 12% do genoma, já foi utilizado para a detecção de infecção em moluscos e amostras humanas por métodos de hibridação (Hamburger et al., 1991, 1992; Pontes, Dias-Neto & Rabello, 2002).

Elementos móveis são outros tipos de segmentos altamente repetitivos de DNA. Existem duas categorias principais de elementos móveis: classe I, que se transporta por um intermediário de RNA; e classe II, que se transporta diretamente, sem intermediários (Brindley et al., 2003). Os elementos classe I incluem retrotransposons com longas repetições terminais (LTR) e retrovírus e retrotransposons sem LTR (*non*-LTR) e pequenos elementos nucleares genômicos (Sine). Os retrotransposons com LTR codificam para os genes *gag* cujo produto se liga a DNA, transcriptase reversa, RNase H e integrase. Os retrotransposons *non*-LTR, dos quais fazem parte os Line (elementos longos), são de uma linhagem extremamente antiga. Os elementos *non*-LTR codificam para uma proteína *gag-like* e uma transcriptase reversa com atividade de nuclease. Os elementos Sine são pequenos e não autônomos, necessitando de proteínas como a transcriptase reversa codificada por outra fonte. Os elementos classe II são chamados de transposons. Os transposons se movem por processos autônomos mediados pela enzima transposase. Podem também se mover horizontalmente entre espécies.

Em *S. mansoni* já foram identificados um elemento tipo Sine (Sma) (Spotila et al., 1989), o SR1 do tipo *non*-LTR ainda não totalmente caracterizado (Drew & Brindley, 1997) e SR2, um tipo RTE-1-*like non*-LTR (Malik & Eickbush, 1998; Drew et al., 1999). *Gulliver*, um retrotransposon LTR originalmente identificado em *S. japonicum*, está provavelmente presente no genoma de *S. mansoni* (Laha et al., 2001). *Boudicca*, um retrotransposon LTR da família gypsy/Ty3, foi o primeiro do tipo a ser identificado em *S mansoni* e está presente em um grande número de cópias no genoma (Copeland et al., 2003). Recentemente, três outros retrotransposons LTRs foram descritos e denominados Saci-1 (membro da família BEL), Saci-2 e Saci-3 (ambos da família *Gypsy*/Ty3, sendo Saci-3 similar a *Boudicca* de *S. japonicum*) (Copeland et al., 2003). Além desses, Perere, um *non*-LTR retrotransposon membro da família CR1, foi identificado a partir do estudo do transcriptoma de *S. mansoni* e corresponde a uma grande porcentagem do total de mRNAs

de vários estágios (DeMarco et al., 2004). É também interessante notar que o elemento Sma contém em sua estrutura um domínio catalítico de RNA funcional conhecido como *hammerhead* (Ferbeyre, Smith & Cedergren, 1998; Vazquez-Tello et al., 2002). Na Figura 2 é demonstrada uma representação da organização dos elementos genéticos móveis já descritos para *S. mansoni*.

Figura 2 – Representação gráfica dos elementos genéticos móveis encontrados em *S. mansoni*. A – Sma: A/B em verde indica o promotor da RNA-polimerase III, HH indica o domínio similar ao da ribozima *Hammerhead* e, ao final, 3' indica a cauda rica em A. B – SR1: em branco estão representadas as regiões ainda não caracterizadas, em verde está representado o gene *pol*, em azul e vermelho estão representadas as seqüências terminais e em amarelo a região com os domínios conservados da transcriptase reversa. SR2: em vermelho está a região 3' não traduzida, em roxo uma pequena região traduzida (ORF 1), seguida da ORF do gene *pol*, em verde os genes da endonuclease (ENDO) e da transcriptase reversa (RT) e em marrom a região repetitiva final. Saci-1 e Saci-2 têm o gene *gag* codificado na mesma ORF que *pol* e Saci-3 tem uma terceira ORF indicada em verde, cujo produto é desconhecido. C – *Gulliver*: em amarelo são mostrados os terminais LTR, em azul o gene *gag* e em vermelho a poliproteína e os domínios protease (PR), transcriptase reversa (RT), RNase H (RH) e integrase (IN). *Boudicca* tem a composição de genes similar a *Gulliver*, com a exceção de uma possível proteína do envelope (env), em verde. Perere possui duas regiões não traduzidas, a 5' e 3' em amarelo, e uma ORF que codifica para uma endonuclease (ENDO) e uma transcriptase reversa (RT)

Fonte: construída com base em Spotila et al. (1989), Laha et al. (2001), Brindley et al. (2003), Copeland et al. (2003) e DeMarco et al. (2004).

Um importante aspecto do estudo genômico de *S. mansoni* é o mapeamento físico de grandes fragmentos clonados. Um mapa físico é importante para a localização de genes de interesse e também como ferramenta auxiliar na montagem da seqüência genômica. Para este fim é necessário que se utilizem clones em bibliotecas de grandes insertos. Uma das bibliotecas foi construída em cromossomos artificiais de levedura (YACs) (Tanaka et al., 1995) e duas outras em cromossomos artificiais de bactérias (Le Paslier et al., 2000; El Sayed et al., 2004). Na biblioteca em YACs e em uma das bibliotecas de BACs foram já utilizadas o mapeamento físico de clones (Tanaka et al., 1995; Le Paslier et al., 2000). O mapeamento físico é realizado com a hibridação de fragmentos marcados diretamente ou indiretamente com um fluorocromo como a fluoresceína, uma técnica conhecida como *fluorescent in situ hybridization* ou Fish (Hirai & LoVerde, 1995). Além do mapeamento de clones, a metodologia de Fish foi utilizada para a localização dos telômeros nos cromossomos de *S. mansoni*, que se apresentaram na forma típica nos finais dos oito cromossomos (Hirai & LoVerde, 1996). Um resumo do mapeamento realizado até o momento com a biblioteca da YAC e BAC é demonstrado anteriormente na Figura 1. Uma técnica de mapeamento físico alternativa é o *primed in situ labelling* ou Prins (Hirai, 2001).

O seqüenciamento e a montagem das seqüências genômicas de *S. mansoni* está acontecendo atualmente (Oliveira et al., 2004b). Para a obtenção do genoma completo desta espécie foi feito o uso de duas bibliotecas de grandes insertos em um vetor BAC (Le Paslier et al., 2000; El-Sayed et al., 2004). A primeira etapa consistiu na geração de um grande número de seqüências dos finais dos clones dos BACs. No total foram geradas 32 mil seqüências pelo Tigr (www.tigr.org/tdb/e2k1/sma1/endseq_status.shtml) e 14.500 pelo Genoscope (Oliveira et al., 2004a). Estas seqüências auxiliam na descoberta de novos genes (veja Transcriptoma, adiante) e também possibilitam a construção de um mapa de alta resolução em uma estratégia em que o mapa é feito em paralelo ao seqüenciamento genômico. As seqüências podem ser encontradas na divisão dbGSS do GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/dbGSS/index.html). Em seguida foi iniciado o trabalho de seqüenciamento de BACs se utilizando uma estratégia denominada *whole genome shotgun* (Venter et al., 1996). Duas instituições foram envolvidas neste processo, o Tigr (www.tigr.org/tdb/e2k1/sma1/) e o Sanger Centre (www.sanger.ac.uk/Projects/S_mansoni/). A estratégia está descrita na Figura 3. Com as duas estratégias foi gerada uma cobertura de 7,5 vezes o genoma do parasito. Após a montagem das seqüências, espera-se que sejam obtidas seqüências de consenso de grande extensão, mas que ainda existam furos ou *gaps* no genoma de *S. mansoni*.

O genoma mitocondrial de *S. mansoni* também já foi seqüenciado (Le, Blair & McManus, 2000, 2002). A estrutura do genoma e a ordem dos genes são demonstradas na Figura 4. O genoma mitocondrial contém uma região não codificante de tamanho variável bastante útil em estudos filogenéticos (Despres, Imbert-Establet, 1993; Lockyer et al., 2003) e também já foi utilizada com alvo para a detecção de infecção por PCR em caramujos (Jannotti-Passos et al., 1997). Todos os genes do genoma mitocondrial são transcritos de uma mesma fita. Apesar de a composição de genes ser a usual, a sua seqüência mostra diferenças consideráveis em comparação a outras espécies. Uma única exceção é que o gene *atp*8 não foi encontrado em nenhuma das espécies de *Schistosoma*.

Figura 3 – Estratégia utilizada para o seqüenciamento do genoma de *S. mansoni*. A – inicialmente o DNA do parasito é extraído e selecionado por tamanho. B – em seguida o DNA purificado é clonado em vetores do tipo BAC. C – Os clones são seqüenciados individualmente; centenas de milhares de reações de seqüenciamento são necessárias. D – As seqüências são avaliadas para definir: qualidade, presença do vetor de clonagem e contaminantes. Em seguida, as seqüências individuais são montadas e uma seqüência de consenso é obtida

Fonte: foto cedida por Wander Jeremias.

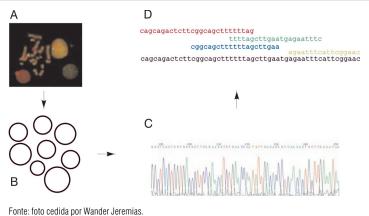
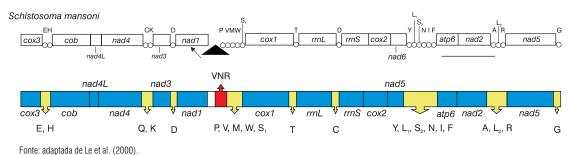



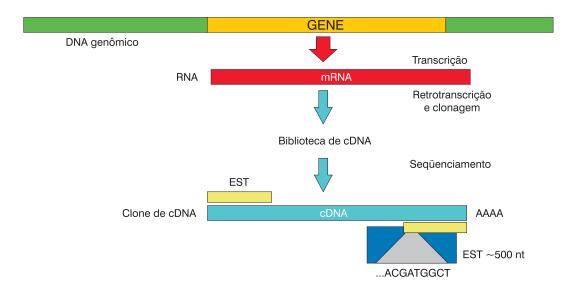
Figura 4 – Estrutura do genoma mitocondrial de *Schistosoma mansoni*. O tamanho total do genoma mitocondrial é de aproximadamente 14 mil pb. Os genes indicados por caixas azuis são: *cox*1, 2 e 3, subunidades da citocromo C oxidase; *cob*, citocromo b; *nad* 1, 2, 3, 4, 4L e 5, subunidades da NADH desidrogenase; *rrn* L e S, subunidades do RNA ribosomal grande e pequena. A caixa amarela com a seta indica os genes codificantes para os RNAs transportadores e as letras indicam os aminoácidos transportados: E, ácido glutâmico; H, histidina; Q, glutamina; K, lisina; D, ácido aspártico; P, prolina; V, valina; M, metionina; W, triptofano; S_1, serina (AGN); T, treonina; C, cisteína; Y, tirosina; L_1, leucina (CUN); S_2, serina (UCN); N, asparagina; I, isoleucina; F, fenilalanina; A, alanina; L_2, leucina (UUN); R, arginina; G, glicina. A caixa vermelha com a seta indica a região não codificante, de tamanho variável

Fonte: adaptada de Le et al. (2000).

TRANSCRIPTOMA

Atualmente existem mais de oito mil UniGenes de *S. mansoni* cujas seqüências parciais ou totais estão depositadas em bancos de dados de domínio público (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/). Entretanto, o número de proteínas hoje depositadas é de somente 1.243. Estas desempenham diversas

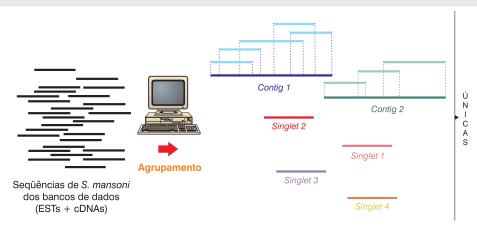
funções, sendo elas proteínas estruturais, enzimas, proteínas de transporte, canais, receptores, proteínas armazenadoras, proteínas constituintes de vias sinalizadoras, proteínas regulatórias citoplasmáticas ou nucleares, proteínas envolvidas nos processos de tradução, antígenos e outras de função diversa. A evolução do conhecimento acerca do genoma expresso de *S. mansoni* foi, sem dúvida, bastante rápida nos últimos vinte anos, impulsionada decerto pela necessidade de descoberta de novos alvos para a produção de drogas anti-esquistossomóticas, ou mesmo para a produção de uma vacina eficaz. Informações valiosas e definitivas já foram geradas desde que os primeiros genes foram clonados. No entanto, para um organismo para o qual se estima a existência de cerca de 15 mil genes expressos (Verjovski-Almeida et al., 2003), o número atual de proteínas com seqüência depositada em bancos de dados ainda é muito modesto. É certo que muito ainda permanece por ser entendido, principalmente no que diz respeito a processos regulatórios que levam à ativação ou repressão de genes durante as fases do ciclo de vida e da organização geral ou específica de certas partes do genoma. Torna-se assim óbvio que o desenvolvimento de um projeto de seqüenciamento de transcritos em larga escala para a identificação de novos genes, assim como para o estudo da organização destes genes e sua localização em cromossomos, levaria a um avanço rápido do conhecimento da biologia do parasito e forneceria novos subsídios para o desenvolvimento de vacinas ou drogas que agiriam em sítios vitais para a sobrevivência do verme dentro do hospedeiro.

Com essa idéia em mente foi criado, em 1992, um programa de descoberta gênica em *S. mansoni*, baseado na produção de seqüências parciais de transcritos. Esta se constituiu em uma iniciativa conjunta de três laboratórios: dois do Brasil (UFMG e Centro de Pesquisa René Rachou/Fiocruz, ambos em Belo Horizonte) e um dos Estados Unidos (The Institute for Genomic Research – Tigr, Rockville, MD). Para o seqüenciamento de toda a porção expressa do genoma de *S. mansoni* seria necessário adotar uma técnica que fosse ao mesmo tempo eficiente e rápida. A estratégia básica utilizada envolveu o seqüenciamento, em um único passo, de clones de cDNA selecionados aleatoriamente de bibliotecas (Figura 5). O seqüenciamento do cDNA pode ser total (*full-length*) e realizado em vários passos ou em único passo, que resulta em seqüências parciais, mas com tamanho suficiente para conter a informação necessária à identificação do gene por intermédio de pesquisa de homologia com seqüências depositadas em bancos de dados. Para tanto, utilizam-se programas do pacote de *softwares* Blast (Altschul et al., 1997). É comum, atualmente, para a comunidade científica, verificar alinhamentos comparativos entre a seqüência-pergunta e as seqüências depositadas em bancos de dados de nucleotídeos ou proteínas. O processo em único passo tem sido largamente utilizado por diferentes grupos de pesquisa e consiste em corrida eletroforética única dos produtos de seqüenciamento, que fornece uma leitura em torno de 500 nt ou mais de DNA. Esta seqüência foi denominada etiqueta de seqüência expressa (EST), pelo grupo pioneiro do Dr. J. Craig Venter (Adams et al., 1991). As ESTs são geradas a partir da extremidade inicial ou final do cDNA, pois para a obtenção da seqüência são utilizados iniciadores que se anelam no vetor. Assim, as ESTs são produzidas por meio de uma metodologia extremamente simples, de custo moderado, sendo portanto acessível a pequenos laboratórios. As etiquetas podem servir também na construção de mapas físicos, na caracterização de grandes seqüências genômicas, na identificação de genes em genomas e em tecnologias aplicadas à indústria farmacêutica (Zweiger & Scott, 1997). Quando o projeto transcriptoma de *S. mansoni* teve início, menos de cem genes do parasito haviam sido completamente ou parcialmente seqüenciados e depositados em bancos de dados (Franco, 2000; Franco et al., 2004).

Figura 5 – Geração de ESTs, etiquetas de seqüências expressas. Para a produção de ESTs, o RNA mensageiro (mRNA) é extraído do material de interesse e a retrotranscrição é realizada, geralmente a partir de um iniciador oligo-d(T) que se liga à cauda poli-A da molécula. Após a síntese da segunda fita e clonagem em plasmídeo, clones individuais são selecionados. As regiões extremas, 5' e 3' do DNA clonado são seqüenciadas gerando etiquetas do transcrito (ESTs)

Para o projeto de descoberta gênica em *S. mansoni* foi construída, inicialmente, uma biblioteca de cDNA de verme adulto para a obtenção de ESTs. Após seqüenciamento intensivo e análise por pesquisas de homologia, as primeiras 607 ESTs foram produzidas. Estas ESTs corresponderam a 169 genes distintos do parasito, 154 dos quais nunca antes haviam sido seqüenciados em *S. mansoni* (Franco et al., 1995). No entanto, os primeiros dados de seqüências geradas no programa foram provenientes de apenas uma biblioteca de cDNA de vermes adultos. Porém, com o seqüenciamento de clones de cDNA de apenas uma fonte, se torna quase impossível se cobrir a totalidade de genes expressos em um organismo, dado que os tipos de transcritos variam de acordo com o tecido, fase do desenvolvimento e diferentes estados metabólicos (Bishop, 1974). Transcritos de genes *housekeeping*, ou aqueles que codificam para proteínas com funções básicas em células especializadas, por exemplo, são expressos em maiores quantidades e são mais estáveis do que transcritos que codificam para proteínas regulatórias. Tornou-se assim necessário, para o sucesso na identificação da totalidade dos genes expressos, a construção de bibliotecas de cDNA provenientes de diferentes fases do desenvolvimento de *S. mansoni*. Desde 1993, por determinação da Organização Mundial da Saúde (OMS), o estudo da genômica do parasito tornou-se a única forma de se obter informação que pudesse ser revertida em novas ferramentas de controle da doença (El Sayed et al., 2004; Oliveira et al., 2004a). Assim, o programa de descoberta gênica em *S. mansoni* foi parcialmente financiado pela WHO/TDR no período de 1994 a 2000 e os laboratórios participantes da *Schistosoma Genome Network*, juntamente com outros grupos, geraram cerca de 16.815 ESTs (dbEST 22 de agosto de 2003). Estas seqüências foram obtidas de bibliotecas constituídas de transcritos expressos nas várias fases do ciclo de vida do parasito.

Como o processo de produção das ESTs trata-se de um seqüenciamento em único passo, é comum observar um grande número de erros de seqüenciamento, além do tamanho pequeno das seqüências e ainda alta redundância nos dados, visto que os clones de cDNA são aleatoriamente escolhidos de uma biblioteca (Miller et al., 1999; Liang et al., 2000). Na tentativa de superar estes problemas e ainda de fornecer uma visão mais detalhada dos números e tipos de genes selecionados, é comum a utilização de procedimentos de agrupamentos de seqüências (Figura 6) (Oliveira & Johnston, 2001). O agrupamento das quase 17 mil seqüências, utilizando o programa Cap3, revelou que as ESTs obtidas correspondiam a 6.328 seqüências transcritas diferentes de *S. mansoni*, das quais cerca de 70% não puderam ser identificadas com pesquisa de homologias em bancos de dados de DNA, proteínas ou domínios protéicos (Franco, 2004).

Além da produção das ESTs a partir de bibliotecas de cDNA, foi iniciada também a análise do padrão de expressão gênica diferencial, por *Differential Display* (Liang & Pardee, 1992). Com esta técnica, fragmentos de DNA obtidos da amplificação com iniciadores aleatórios de cDNAs dos vários estágios do ciclo de vida do *S. mansoni* são submetidos à separação eletroforética. Os perfis de amplificação são comparados nas várias situações e os fragmentos de DNA considerados estágio ou sexo-específicos são clonados em plasmídeos e utilizados na geração de ESTs. Esta nova técnica de análise da expressão gênica está sendo utilizada em laboratórios no Brasil, onde já se identificaram genes candidatos diferencialmente expressos em ovos, miracídios, esquistossômulos e machos e fêmeas adultos (Franco et al., 2000).

Figura 6 – Agrupamento de transcritos. Seqüências individuais de um projeto com redundância, como a produção em larga escala de ESTs, são agrupadas para formarem *contigs* que devem representar, cada um, um transcrito individual. Os *contigs* representam, portanto, um conjunto de ESTs. ESTs que não se agrupam são denominadas *singlets*. Cada *contig* e *singlet* deve representar um único transcrito, ou partes não sobrepostas de um mesmo transcrito

Em 2001 foram iniciados no Brasil dois programas de seqüenciamento, em larga escala, do transcriptoma de *S. mansoni*:

- projeto financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), visando gerar 120 mil Orestes e ESTs clássicas de várias fases do ciclo de vida do parasito;
- projeto financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) e pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), visando gerar cem mil ESTs e seqüências de quinhentos cDNAs completos.

Pelo programa Fapesp foram obtidas 179.092 Orestes e ESTs dos estágios de esquistossômulos, esporocistos, cercárias, adultos, ovos e miracídios. Um total de 124.640 Orestes foram agrupadas em aproximadamente 31 mil seqüências únicas (SmAEs), sendo que, em média, 55% das SmAEs não puderam ser identificadas por homologia com seqüências de bancos de dados. Os pesquisadores de São Paulo estimam que tenham sido descobertos em torno de 14 mil genes do parasito, o que corresponderia a 92% do seu genoma expresso (Verjovski-Almeida et al., 2003, 2004). Com relação à Rede Genoma de Minas Gerais de seqüenciamento, foram geradas 58.205 ESTs a partir de bibliotecas de vermes adultos, ovos e cercárias. Das 58.205 ESTs geradas, 18.379 puderam ser identificadas com base em homologia com proteínas depositadas na base de dados secundária de proteínas eucariotas (KOGs). O restante das seqüências corresponderam a genes homólogos aos de *S. mansoni*, a outras espécies de *Schistosoma* ou a outros trematódeos ou ainda não apresentaram qualquer homologia com seqüências conhecidas e depositadas em bancos de dados públicos. As cerca de 18 mil ESTs identificadas corresponderam a genes com as mais diversas funções no organismo, sendo a maioria deles (genes representados por mais de 2.500 ESTs) pertencentes às categorias de tradução, estrutura e biogênese de ribossomos; citoesqueleto; modificações pós-traducionais, *turn-over* de proteínas, chaperones e transporte e metabolismo de carboidratos. Alguns clones de cDNA, contendo a região codificadora completa, foram escolhidos para seqüenciamento direcionado. A estratégia aplicada permitiu selecionar 3.782 clones, os quais representam 487 proteínas completas diferentes (Franco et al., 2004). Torna-se, assim, de grande interesse para a comunidade científica que pesquisa a esquistossomose conhecer mais profundamente a função de cada um daqueles genes e, em especial, os sem similaridade com quaisquer seqüências conhecidas em outros organismos.

A liberação da seqüência genômica será de grande utilidade, pois permitirá checar a acurácia dos dados de descoberta gênica produzidos em projetos de transcriptoma. Por outro lado, os genes transcritos já descobertos podem auxiliar em uma anotação mais precisa do genoma, pois podem ser prontamente localizados na seqüência genômica em se utilizando ferramentas de bioinformática (Franco, 2004).

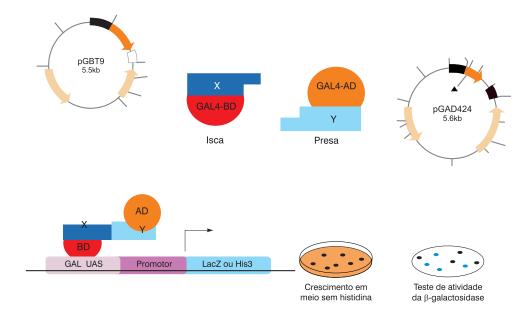
FERRAMENTAS MOLECULARES PARA O ESTUDO DA FUNÇÃO DE GENES DE *Schistosoma*

Com o avanço no seqüenciamento de genes de diferentes organismos, tornam-se necessários estudos funcionais que possibilitem a descoberta do papel biológico das proteínas codificadas por estes genes. Os dados de seqüências de DNA, embora forneçam a informação necessária para o conhecimento dos genes, são, na maioria dos casos, insuficientes para o entendimento da função biológica das proteínas codificadas por estes genes ou para o entendimento da relação dessas proteínas com outras moléculas na célula (Reeves, 2002). Um completo entendimento do funcionamento de uma proteína requer informações em vários níveis: sua estrutura, modificações pós-traducionais, atividade bioquímica, interações com outras proteínas e seu papel celular.

A determinação da função gênica é um dos maiores interesses dos grupos envolvidos em pesquisa genômica. A existência de uma janela aberta de leitura (ORF) nos dados genômicos não implica, necessariamente, a existência de um gene funcional (Pandey & Mann, 2000). Estudos de função gênica abrangem basicamente dois aspectos: função molecular e função biológica. Informações sobre a função molecular podem ser obtidas usando-se vários métodos, tais como: investigação da presença de domínios

estruturais/funcionais conservados nas proteínas codificadas pelos genes, com recursos de poderosas ferramentas de bioinformática; modelagem molecular de proteínas por homologia com outras proteínas cujas estruturas já sejam conhecidas; e, finalmente, a caracterização da atividade bioquímica da proteína. Evidências sobre a função gênica na biologia do organismo podem ser obtidas mediante análises da expressão tecido, sexo-específica ou expressão temporal; e ainda pela destruição do gene e obtenção de linhagens *knockout* ou pela produção de transgênicos que superexpressem o gene, sendo então o fenótipo do mutante analisado para se verificar os prejuízos ao organismo.

Uma questão-chave sobre uma proteína, além de quando e onde ela é expressa, é com quais outras proteínas ela interage (Pandey & Mann, 2000). Como os processos biológicos são realizados com interações proteína-proteína, uma possível abordagem para se descobrir a função de um produto gênico desconhecido é identificar seu parceiro (Aronheim & Karin, 2000). Se a função de uma proteína é conhecida, então pode ser inferido que uma outra proteína que se ligue a ela tenha ação na mesma via ou participe do mesmo complexo que a primeira proteína (Eisenberg et al., 2000). Novas tecnologias foram desenvolvidas para tal fim, como o sistema do duplo híbrido em leveduras (Fields & Song, 1989), em células de mamíferos (Fearon et al., 1992) ou em bactérias (Joung, Ramm & Pabo, 2000) e o ensaio de *phage-display* (Wolfe et al., 1999) (Figura 7). Interações feitas pela proteína, ou por um domínio da proteína, são uma parte essencial da sua função (Teichmann et al., 2001). Embora a identificação de apenas uma ou duas interações para uma proteína não caracterizada possa ser insuficiente para predizer sua função real, ela sugere uma atividade que pode ser testada experimentalmente (Tucker et al., 2001).

Figura 7 – Sistema de duplo-híbrido em levedura. Este sistema foi desenvolvido para se detectar interações entre proteínas. A proteína de interesse (isca) é expressa em fusão com o domínio da proteína Gal4, que se liga à região promotora (GAL UAS) do gene repórter LacZ da levedura. E a proteína presa (que possivelmente interage com a isca) é expressa em fusão com o domínio de ativação da transcrição da proteína Gal4. Se ocorre a interação entre isca e presa, ocorre a união dos domínios de ligação ao DNA e de ativação transcricional da proteína Gal4, fazendo com que o gene repórter, LacZ, seja expresso

Marcadores Polimórficos

Dois dos principais tipos de marcadores genéticos polimórficos são microssatélites e polimorfismos de base única (SNPs, Figura 8). Os avanços na identificação e uso destes marcadores em *S. mansoni* serão abordados nesta seção. Microssatélites são curtas seqüências de DNA contendo de uma a seis bases, repetidas em *tandem*. Estes marcadores são diplóides, herdados de modo mendeliano, expressos de modo co-dominante e seletivamente neutros (Tautz & Renz, 1984; Weber & May, 1989; Ashley & Dow, 1994). Os microssatélites mostram um alto grau de polimorfismo gerado pela variação no número de repetições entre indivíduos (Schlotterer, 2000). Os polimorfismos têm uma distribuição por todo o genoma. Todas estas características fazem dos microssatélites excelentes marcadores para a tipagem de indivíduos, para estudos de populações e construção de mapas genéticos (Barker, 2002; Meloni, Biguet & Mallet, 2002; Gologan et al., 2005). A tipagem de microssatélites pode ser realizada facilmente em alelos bem definidos, com o uso da técnica de PCR (Ashley & Dow, 1994). A utilidade destes marcadores para o estudo de populações de *S. mansoni* já foi descrita e vários marcadores, desenvolvidos (Curtis & Minchella, 2000; Rodrigues et al., 2002a). A existência de projetos de seqüenciamento em larga escala do genoma e do transcriptoma desta espécie, além do uso de bibliotecas enriquecidas para microssatélites, foi essencial para o desenvolvimento de marcadores polimórficos (Rodrigues et al., 2002b; Oliveira et al., 2004b). Vários marcadores já foram desenvolvidos e utilizados no estudo de populações de parasitos em áreas endêmicas. Durant et al. (2000) observaram uma extensa variação dos parasitos em ratos infectados na ilha de Guadalupe. Esta população mostrou-se também estruturada de uma maneira sexo-específica. Como esperado, Blair, Davis & Wu (2001) mostraram uma maior diversidade desta espécie na África, em comparação com a América do Sul. No Brasil foi observada uma maior diversidade em isolados do campo, quando comparados com populações de laboratório (Rodrigues et al., 2002a).

Polimorfismos de base única ou SNPs representam uma fonte abundante de variação genética. SNPs são gerados pela substituição de uma única base nucleotídica ou pequenos eventos de inserção ou deleção (Indels), ocorrendo com uma taxa de mutação muito baixa, de aproximadamente $1x10^{-9}$ a $5x10^{-9}$ eventos por nucleotídeo/ano, a maioria em posições neutras do genoma humano (Martinez-Arias et al., 2001) (Figura 8). Em comparação a outros marcadores, a grande vantagem dos SNPs reside na abundância de polimorfismos entre alelos de um determinado gene e ampla distribuição, podendo estar presentes em, praticamente, todos os *loci* gênicos. No genoma humano, por exemplo, estima-se que existam aproximadamente dez milhões de SNPs (Lai, 2001), ocorrendo numa freqüência de 1 SNP a cada 500-1.000 pb (Sachidanandam et al., 2001). Já se sabe que os SNPs são marcadores dialélicos altamente estáveis, já que a probabilidade de alteração de duas bases independentes, presentes numa mesma posição, é pequena. SNPs são capazes de gerar haplótipos com descendência idêntica, o que permite a comparação estatística de haplótipos entre grupos de estudo e controles. Além disso, sua identificação é passível de automação em alta capacidade (Heaton et al., 2001).

Figura 8 – Microssatélites e polimorfismos de base única (SNPs). A – Representação de três alelos de microssatélites contendo a repetição cat 13, 18 ou nove vezes. B – Representação de SNPs contendo dois alelos, G e C

A
Alelo cat(13)
catcatcatcatcatcatcatcatcatcatcatcatcat
Alelo cat(18)
catcatcatcatcatcatcatcatcatcatcatcatcatcatcatcatcatcat
Alelo cat(9)
catcatcatcatcatcatcatcatcat

B
SNP Alelo A
atcgatcagctagctaGctacgatcagctagctagc
SNP Alelo B
atcgatcagctagctaCctacgatcagctagctagc

SNPs podem ser encontrados tanto em regiões codificadoras como em regiões não codificadoras do genoma, como íntrons e regiões intergênicas (Wong et al., 2003). A presença de SNPs no genoma pode ter conseqüência para o modo como o genoma é expresso, podendo causar edição alternativa do mRNA, alterações no padrão de expressão de genes, geração ou supressão de códons de terminação ou poliadenilação na molécula de RNA mensageiro e alteração nos códons de iniciação de tradução (Wang et al., 2005). Mutações presentes em regiões codificadoras são classificadas em sinônimas ou não sinônimas. Mutações não sinônimas resultam em uma substituição de aminoácido codificado na seqüência protéica, podendo ser conservativas ou não conservativas em função das características dos aminoácidos envolvidos na troca. Nesses casos, a presença do polimorfismo pode levar a uma mudança estrutural da proteína codificada e, conseqüentemente, a uma possível alteração da sua função (Stitziel et al., 2004). Por outro lado, mutações do tipo sinônimas são aquelas as quais a presença do polimorfismo não causa alteração do aminoácido codificado.

Após estudos confirmatórios, SNPs podem ser usados para identificar genes associados a severidade de doenças e resistência a drogas, fenótipos de interesse e por análises de ligação (Sachidanandam et al., 2001). Além disso, SNPs também são úteis na construção de mapas genéticos de alta resolução, diagnóstico genético, análises filogenéticas (Rafalski, 2002) ou em estudos de história e genética de populações (Weiss, 1998; Judson & Stephens, 2001).

Apesar de SNPs já terem sido detectados em alguns genes de *S. mansoni*, uma verificação global deste tipo de polimorfismo ainda não havia sido realizada. É interessante ressaltar que alguns dos genes mais polimórficos observados possuem caráter antigênico, como: aldolase (Harrop, Coulson & Wilson, 1999), GAPDH (Argiro et al., 2000), proteína 14-3-3 (Schechtman et al., 2001), superóxido dismutase (Cook et al., 2004) e uma proteína do tegumento (Hoffmann & Strand, 1996). Recentemente, porém, uma predição de polimorfismos de alta qualidade foi realizada utilizando-se um conjunto de seqüências do

transcriptoma do parasito (Simões et al., no prelo). Foi utilizado um algoritmo de predição de SNPs em regiões de seqüências de alta qualidade. A partir de um conjunto de 60.002 seqüências agrupadas (3.702.915 de bases) em 5.082 contigs foram observados 2.303 possíveis SNPs. Dentre os vários genes que apresentaram polimorfismos estão conhecidos antígenos como glutationa-S-transferase (GST), triose-fosfato-isomerase (TPI), o antígeno de membrana 23 kDa (Sm23/MAP3), o antígeno de membrana 14 kDa (Sm14) e catepsina B. Os polimorfismos no gene da catepsina B foram verificados por resseqüenciamento em amostras de parasitos obtidos de áreas endêmicas.

Transgênese

Com os enormes avanços tecnológicos em genômica, na última década do século XX, os métodos de descoberta gênica e sua caracterização funcional se desenvolveram significativamente, sendo já aplicados a uma gama de diferentes organismos, especialmente parasitos de interesse médico. Este progresso foi devido principalmente ao estabelecimento de culturas *in vitro* para facilitar a experimentação manual, a criação de bancos de dados de seqüências genômicas e de ESTs e a habilidade de se manipular genes específicos e se medir sua expressão em organismos intactos usando poderosas ferramentas de transgênese e interferência por RNA (RNAi) (Boyle & Yoshino, 2003). No entanto, para se trabalhar com helmintos existem barreiras ainda a serem ultrapassadas, como a falta de um sistema de cultivo independente de passagem pelo hospedeiro, ou a necessidade de produção de culturas celulares bem estabelecidas e a inexistência de métodos para a manipulação estável e eficiente de genes dentro dos organismos vivos (Boyle & Yoshino, 2003).

O estudo funcional dos genes novos selecionados dentro dos projetos de descoberta gênica em *Schistosoma* encontra uma barreira na impossibilidade da utilização de técnicas de deleção gênica diretamente nesse parasito. Primeiramente eles são metazoários que passam por enormes transformações morfológicas durante os vários estágios do seu ciclo de vida e, segundo, eles são organismos grandes, cobertos por uma camada resistente de tegumento, que teria de ser interrompida sem causar lesões ao parasito, para a introdução de ácidos nucléicos. Uma alternativa para contornar essas dificuldades técnicas é a utilização de mutantes de organismos de fácil manipulação e de genética já bem estabelecida, como a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, para o estudo da função dos genes de *Schistosoma* por complementação funcional heteróloga. No entanto, uma grande parte dos genes expressos pelo verme não está presente no genoma da levedura, ou até mesmo a similaridade entre os genes ortólogos é considerada baixa para permitir a complementação parcial ou total da função perdida na levedura. Desse modo, somente com o desenvolvimento de ferramentas para a transgênese transiente ou estável em *Schistosoma* será possível a descoberta da função de genes em larga escala. Para que isto se torne realidade, é necessário otimizar os métodos de introdução de DNA ou RNA no parasito para assegurar que o ácido nucléico seja efetivamente entregue no tecido-alvo. Para se gerar os transformantes, é preciso a combinação de vetores com promotores apropriados, em geral promotores fortes de genes do próprio organismo, para a expressão máxima do gene. A escolha do vetor a ser utilizado não é menos importante, principalmente quando se almeja criar transformantes estáveis, pois é necessário, neste caso, adicionar seqüências genômicas de inserção e marcadores de seleção no vetor (Boyle & Yoshino, 2003). Os métodos mais comuns existentes atualmente para introdução de construções de DNA ou plasmídeos em metazoários são a biobalística (bombardeamento de partículas, geralmente de ouro) e a microinjeção. Também existem técnicas que utilizam a eletroporação ou a transfecção por agentes lipofílicos, como a lipofectina.

Para *S. mansoni* já foram reportadas transfecções transientes de genes repórteres, com relativo sucesso. A primeira descrição do uso de biobalística para introduzir DNA plasmidiano codificador de luciferase em vermes adultos foi feita por Davis et al. (1999). Esta consistia da utilização do promotor do gene de *Splice Leader* (SL) de *S. mansoni* fundido à porção 5' da região codificadora da luciferase, seguido pelo sinal de poliadenilação do gene da enolase. Com esta construção os autores reportaram que, 11 horas após a transfecção, os níveis de atividade da luciferase estavam vinte vezes acima dos níveis basais. Um estudo mais extenso foi feito por Wippersteg et al. (2002b), no qual o gene repórter da proteína fluorescente verde (GFP) foi fundido ao promotor e ao terminador do gene de choque térmico hsp70 de *S. mansoni*. A construção foi usada para revestir partículas de ouro que foram bombardeadas em vermes adultos machos e esporocistos. A transcrição de GFP foi induzida em ambos os estágios por choque térmico a 42ºC. A expressão de GFP foi analisada por microscopia, RT-PCR e *Western-blot*. A expressão de GFP nos dois estágios foi ligeiramente diferente, sendo que no verme adulto ela foi dependente do choque térmico. O mesmo grupo de pesquisadores demonstrou, em esporocistos, com outra construção que utilizava o promotor e o terminador do gene da cisteína protease ER60 de *S. mansoni* fundido a GFP, que é possível caracterizar a expressão tecido-específica de um gene (Wippersteg et al., 2002a). Posteriormente, foi relatado o bombardeamento de miracídios com partículas de ouro contendo uma construção de GFP potencializada (EGFP) sobre o controle dos promotores e terminadores do gene hsp70 de *S. mansoni*. Os miracídios bombardeados foram capazes de penetrar e se multiplicar em *Biomphalaria glabrata*, o caramujo hospedeiro intermediário de *S. mansoni*. A atividade do gene repórter foi detectada até dez dias após a infecção do hospedeiro por RT-PCR dos tecidos do caramujo, mas não por microscopia ou *Western-blot*, refletindo os níveis baixos de expressão da construção (Heyers et al., 2003).

Até bem pouco tempo, nenhuma transfecção estável havia sido obtida para *Schistosoma*. Se por um lado as transfecções transientes oferecem um método útil para estudar os efeitos da superexpressão de genes de interesse ou de seus sítios de expressão (tecidos ou fases do desenvolvimento), por outro lado torna-se necessário o desenvolvimento de métodos de transfecção estável no parasito. Um desses pode ser pela utilização de retrovírus. Nesse sentido, recentemente foi publicado um trabalho de transdução de várias fases do ciclo de vida de *S. mansoni* com um retrovírus modificado da família dos retrovírus da leucemia murina de Moloney (MMLV) (Kines et al., 2006). Neste trabalho, o MMLV foi modificado para incorporar os genes repórteres EGFP e luciferase sobre o controle dos promotores dos genes SL e hsp70 de *S. mansoni*. Partículas de retrovírus incompetentes para a replicação foram geradas contendo a glicoproteína do vírus da estomatite vesicular (VSV) no seu envelope. Os vírus foram expostos aos vários estágios do desenvolvimento do parasito, permitindo a infecção dos vermes. Análise por *Southern-blot* demonstrou a integração das construções ao genoma do parasito e a análise dos RNA isolados demonstrou a presença dos transcritos dos genes repórteres (Kines et al., 2006). Esta é a primeira vez que se reporta a transdução de retrovírus em *S. mansoni*, sugerindo uma forma de se gerar transgênicos estáveis e que possam passar para as outras gerações. Todos estes resultados são muito encorajadores e permitirão o progresso da transgênese no parasito. No entanto, mesmo se obtendo uma integração estável, um certo número de obstáculos ainda deverão ser vencidos. Estes incluem o desenvolvimento de estratégias de seleção dos transformantes por drogas e o desenvolvimento de técnicas confiáveis de cultivo do parasito *in vitro* (Boyle & Yoshino, 2003).

RNAi – RNA de Interferência

No início da década de 90 do século XX foi descrito um fenômeno de supressão de expressão gênica em plantas (Napoli et al., 1990; Dehio & Schell, 1994), que mais tarde foi identificado e teve seu mecanismo desvendado no nematódio de vida livre *Caenorhabditis elegans* (Fire, 1999), sendo denominado interferência por RNA (RNAi). Este fenômeno foi posteriormente observado também em insetos, peixes, anfíbios e mamíferos (revisão em Dorsett & Tuschl, 2004). A técnica de silenciamento gênico pelo RNAi foi desenvolvida por Fire et al. (1998) e Fire (1999) e utiliza como base um mecanismo de defesa da célula hospedeira contra vírus cujo genoma consiste de RNA dupla fita (dsRNA). Sabe-se ainda que a interferência por RNA é utilizada naturalmente por células de diversos organismos como um mecanismo de controle da expressão de seus próprios genes. Esta técnica leva à supressão da expressão gênica por diminuição dos níveis do transcrito do gene de interesse, sendo este um evento de regulação pós-transcricional, em oposição à deleção gênica que se obtém por recombinação de DNA, processo que leva à geração de animais geneticamente deficientes, os animais *knock out*. Recentemente foi inclusive demonstrado que, em alguns organismos, a interferência por RNA pode também passar para células da linhagem germinativa e ser transferida aos descendentes (Carmell et al., 2003; Kim et al., 2005). O RNAi se desenvolveu como uma poderosa ferramenta de teste de função gênica. A função do gene seria inferida pela falta da proteína, ou redução dos seus níveis no organismo. Além de ser uma técnica com custo relativamente baixo e de fácil execução, o RNAi ainda possui outras vantagens quando comparado com outras técnicas que visam estudar a função biológica. Dentre elas, podemos destacar a expressão de proteínas recombinantes em sistemas heterólogos, que pode apresentar uma série de problemas, principalmente relacionados à produção de proteínas na sua forma solúvel, corretamente processadas e enoveladas e biologicamente ativas. A tecnologia do RNAi promete revolucionar a biologia experimental em organismos, principalmente naqueles onde ainda não é possível a obtenção de transgênicos, sendo esta aplicada até mesmo em escala genômica em *C. elegans*. Pelo fato de ser simples, a técnica de RNAi pode também ser aplicada na solução de problemas em agricultura, além de representar uma importante ferramenta para a futura implantação de terapia gênica em humanos.

A interferência por RNA se dá pela ação de uma série de enzimas da célula, ocorrendo em diversas etapas. Um complexo protéico, denominado Dicer, com ação de ribonuclease, cliva os dsRNAs que entram nas células, ou que são produzidos pela própria célula, em pequenos fragmentos de 21 a 26 pb conhecidos como os RNAs interferentes pequenos (siRNAs). Estes siRNAs são separados em fita única após se ligarem a outro complexo, chamado complexo de silenciamento induzido por RNA (Risc). Caso a fita de RNA que permanece ligada ao complexo Risc seja complementar a um mRNA intrínseco da célula, ocorrerá uma ligação do complexo Risc com o mRNA, culminando na sua clivagem por uma ribonuclease denominada Slicer. Esta clivagem leva à degradação específica do mRNA, suprimindo a sua tradução (Hamilton & Baulcombe, 1999; Zamore et al., 2000; Dorsett & Tuschl, 2004).

Atualmente, alguns grupos de pesquisa têm almejado aplicar as técnicas de DNA recombinante na tentativa de desenvolver vermes do gênero *Schistosoma* com deleções para genes de interesse, o que permitiria estudar a função de diversas proteínas do organismo do verme. Entretanto, esses estudos encontram uma barreira na impossibilidade, até o momento, da utilização de técnicas de deleção gênica ou mutagênese sítio-dirigida diretamente no genoma desse parasito, o que dificulta a obtenção de mutantes.

Como abordagem alternativa, a técnica do RNAi tem sido aplicada com bons resultados, em *Schistosoma*, nos estudos com a protease digestiva catepsina B, que participa da digestão de moléculas de hemoglobina (Skelly, Da'Dara & Harn, 2003; Correnti et al., 2005), como também para o transportador de glicose (SGTP1) e a enzima glicolítica gliceraldeído 3-fosfato desidrogenese (GAPDH) (Boyle et al., 2003).

O silenciamento gênico por RNAi em *Schistosoma* pode ser obtido de diferentes formas, simplesmente injetando o dsRNA específico dentro do organismo por eletroporação, incubando o verme em uma solução contendo o dsRNA ou mesmo alimentando o parasito com esta molécula. O fenômeno de interferência não requer grandes quantidades de dsRNA e tem longa duração. Em um estudo feito por Correnti et al. (2005), a importância da catepsina B para o crescimento do parasito foi demonstrada por diminuição da expressão desse gene, utilizando a técnica de RNAi. Os autores verificaram que a síntese de catepsina pode ser mantida a níveis extremamente baixos por mais de vinte dias, com uma única transfecção de dsRNA realizada por eletroporação ainda na fase larval, ou seja, em esquistossômulos. Os parasitos tratados com o dsRNA mantiveram-se viáveis e aparentemente continuaram a digerir a hemoglobina, mas mostraram um significante retardo no crescimento quando comparados aos parasitos não tratados. Em um outro trabalho e usando esporocistos, estágio que se desenvolve no interior dos caramujos, Boyle et al. (2003) conseguiram, simplesmente, por incubação dos vermes em uma solução contendo o dsRNA, diminuir os níveis de expressão de SGTP1 e GAPDH por, pelo menos, 21 dias. Com os resultados obtidos, os autores se mostraram otimistas em utilizar a tecnologia do RNAi para desvendar o papel de genes individuais envolvidos nos processos fisiológicos dos estágios larvais do parasito e identificar novos alvos para intervenção contra esse patógeno.

Os resultados de silenciamento gênico até então obtidos com tecnologia do RNAi em *S. mansoni* têm sido encorajadores e, certamente, facilitarão em um futuro próximo a caracterização da função de uma série de genes descobertos nos projetos genoma e transcriptoma desse organismo.

Proteoma

A informação gerada pelo seqüenciamento do genoma e do transcriptoma e o perfil de expressão do genoma analisado por experimentos com microarranjos e Sage não revelam dados sobre abundância, estrutura final ou estado de atividade do produto dos genes, proteínas. A proteômica emergiu para contribuir com dados que tornarão mais completa uma representação da expressão do genoma, em combinação com dados de seqüência e perfil de expressão de RNA. Os métodos utilizados são variados, mas a maioria dos sistemas separa proteínas obtidas por diversos métodos por eletroforese bidimensional ou por cromatografia uni ou multidimensional e identifica as proteínas separadas ou *spots* por espectrometria de massa (Christendat et al., 2000). O uso desta abordagem apenas se iniciou em *S. mansoni*. Ashton, Curwen & Wilson (2001) reviram os procedimentos, e resultados iniciais com esse parasito foram gerados. Uma das possibilidades abertas pelo estudo do genoma é a de se identificar os alvos da resposta imunológica para o desenvolvimento de novas vacinas, especialmente proteínas de membrana e secretadas (Wilson et al., 2004). Neste sentido, foi utilizada uma abordagem que combina eletroforese com cromatografia seguida de análise por espectrometria de massa, identificando-se assim um grande número de proteínas consistentemente isoladas do tegumento (van Balkom et al., 2005). Outros autores identificaram, com uma abordagem semelhante, uma série de proteínas de superfície como tetraspaninas, anexinas, fosfatase alcalina e transportadoras de sódio e potássio, entre outras (Braschi et al., 2006). É esperado que a

abordagem proteômica vá contribuir enormemente para um maior conhecimento da biologia do parasito e também para a identificação de novos alvos para drogas e vacinas.

A TRANSDUÇÃO DE SINAIS E A REGULAÇÃO GÊNICA

A identificação e caracterização de genes expressos por *S. mansoni* teve início na década de 80 do século passado, quando o interesse pelo parasito tinha como principal foco a descoberta de antígenos-alvos para a produção de uma vacina contra a esquistossomose ou mesmo o entendimento do processo de desenvolvimento, maturação sexual e produção de ovos pelas fêmeas do parasito. Técnicas de biologia molecular como clonagem, construção e triagem de bibliotecas e seqüenciamento gênico foram naquela época adaptadas à rotina de pesquisa com *S. mansoni*. Assim, os primeiros genes caracterizados em *S. mansoni* codificavam proteínas constituintes da casca de ovo, sendo expressos seletivamente em células vitelinas de fêmeas maduras e produtoras de ovos, pois estas possuem expressão elevada no organismo adulto (Franco & Simpson, 2001).

Princípios Gerais da Regulação Gênica

Todas as células reconhecem e respondem de maneira apropriada a moléculas presentes no ambiente extracelular. O controle da expressão gênica é complexo, podendo ser exercido em vários níveis. Apesar de os circuitos mais abundantemente descritos para a regulação da síntese protéica estarem relacionados ao processo de transcrição, a regulação também pode ser exercida na tradução do RNA mensageiro (mRNA) e no processamento pós-traducional.

Um grande número de proteínas é fundamental para o início da transcrição, atuando através de interações com a RNA-polimerase. As principais moléculas participantes são os fatores gerais de transcrição (muitos destes constitutivamente ativos no núcleo), co-ativadores, co-repressores, remodeladores de cromatina, acetilases de histona, quinases e metilases (Brivanlou & Darnell Jr., 2002). Estas proteínas essenciais estão presentes em todas as células eucarióticas, contribuindo para a iniciação da transcrição primária, mediada pela RNA-polimerase II, que produzirá o mRNA. Apesar dos co-ativadores e a maquinaria transcricional serem importantes para a sobrevivência de células e organismos, a escolha dos sítios específicos para a iniciação da transcrição não é indicada por estas proteínas, mas por fatores de transcrição reguladores de genes específicos, com dois domínios principais:

- domínio ligante de DNA, que se associa a sítios regulatórios gene-específicos;
- um segundo domínio, capaz de ativar a transcrição. São estes fatores de transcrição sítio-específicos que recrutam co-ativadores e a maquinaria de transcrição, permitindo o início de transcrição gene-específica.

Desta forma, durante o desenvolvimento e a especialização celular, a regulação fina e específica da expressão gênica envolve uma cascata de controle transcricional de genes codificantes de fatores de transcrição e sinais do exterior da célula que ativam de forma pós-transcricional fatores de transcrição já existentes. Portanto, o conjunto de componentes reguladores para cada gene é único, assegurando que a expressão protéica seja apropriada na quantidade, tempo e espaço (Brivanlou & Darnell Jr., 2002).

Dados a respeito da estrutura gênica e organização das unidades transcricionais em *S. mansoni* ainda são incipientes. Porém, muitos dos genes já descritos possuem características semelhantes às de outros eucariotos, inclusive no tipo e disposição de elementos cis-regulatórios, sendo inclusive possível o uso das regiões promotoras desses genes para dirigir a expressão de genes repórteres em células heterólogas (Khalife et al., 1995; Levy-Holtzman & Schechter, 1995; Serra et al., 1996b, 1997). Recentemente, Wippersteg et al. (2002a, 2002b), usando estratégia de biobalística para transferência de genes, induziram em células COS-7 a expressão de *Green Fluorescent Protein* (GFP), sob o controle de regiões promotoras dos genes hsp70 e cisteína proteinase ER60 de *S. mansoni*, mostrando que elementos regulatórios desses genes funcionam em células de vertebrados. Esses resultados reforçam a idéia de que uma perfeita atividade dos promotores gênicos de *S. mansoni*, nos sistemas heterólogos utilizados, pode ser atribuída à similaridade nas seqüências e organização dos promotores do parasito quando comparados com os promotores de organismos superiores. Portanto, o pouco que se conhece sobre a regulação da função gênica nas células de *S. mansoni* sugere que esta obedeça aos princípios gerais de controle da expressão gênica em células eucarióticas. Em última análise, o controle da expressão gênica se revela na indução ou repressão da síntese de proteínas. Este tipo de regulação é fundamental para que as células funcionem sob diferentes condições ambientais, condições de estresse e condições nutricionais.

Regulação da Expressão Gênica em *S. mansoni*

Schistosoma é um parasito metazoário digenéico com várias características únicas em sua morfologia, fisiologia e ciclo de vida, quando comparado a outros membros taxonomicamente próximos (ver Parte I, denominada O Parasito). Para que ocorra a migração a partir da pele, acompanhada de desenvolvimento até a forma parasitária adulta diferenciada sexualmente, o parasito recebe sinais internos e do hospedeiro, que são transduzidos permitindo a regulação gênica necessária à proliferação e diferenciação celular. Além disto, existem evidências de que a maturidade sexual da fêmea depende do pareamento com vermes machos, provavelmente por intermédio de sinais provenientes dos machos (Grevelding, Sommer & Kunz, 1997).

O cenário descrito acima oferece uma idéia do enorme grau de complexidade e especificidade que deve caracterizar a regulação da expressão gênica em *Schistosoma*, em resposta a diferentes sinais resultantes dos diferentes ambientes e situações com que o parasito se defronta durante o desenvolvimento completo de seu ciclo de vida e estágios fisiológicos. Evidentemente que tal complexidade exige a ativação e a desativação de genes de forma ordenada, seguindo um padrão temporal, de acordo com cada estágio de desenvolvimento, e espacial, no que se refere aos diferentes órgãos e tecidos de *Schistosoma*. Diversos genes, no parasito, são expressos especificamente de acordo com as diferentes formas que adquire: são os chamados genes estágio-específicos. Verjovski-Almeida et al. (2004) estimaram em mais de mil, em cada estágio, o número destes genes no parasito. Isso torna a regulação da expressão gênica em *S. mansoni* um processo de suma importância, garantindo uma adaptação do parasito às transformações por ele sofridas (Busek et al., 2002). Tal regulação pode ser realizada tanto em nível transcricional quanto pós-transcricional.

Apesar de se ter de admitir que muito pouco é conhecido sobre o controle da expressão gênica em *S. mansoni*, os estudos e observações pontuais e fragmentadas existentes sugerem que a biologia deste parasito requer mecanismos de regulação gênicos complexos.

Expressão Diferencial de Genes

Durante seu ciclo de vida, *S. mansoni* passa por diferentes estados morfológicos, bem como pelas mais diversas condições ambientais (hospedeiros invertebrado e vertebrado e o ambiente aquático). A evolução de um estágio de desenvolvimento para outro implica modificações na morfologia, fisiologia e bioquímica do parasito, estando associada com a ativação/inativação de genes estágio-específicos. Isto tem sido amplamente demonstrado através da descrição de um enorme número de genes com padrão de expressão estágio-específico (Simpson et al., 1984b; Davis et al., 1986; Grossman et al., 1990; Abath et al., 1994; Mei & LoVerde, 1997; Oliveira, Busek & Correa-Oliveira, 1998; Abath et al., 2000). Acredita-se que as variações de expressão gênicas em diferentes estágios do ciclo de vida do parasito atendam às suas necessidades fisiológicas. De fato, abordagens baseadas no perfil de expressão gênica em cercárias indicaram que a abundância de genes relacionados ao metabolismo energético e a mecanismos de regulação gênica está associada à necessidade de locomoção na água e rápida transformação para esquistossômulos quando da penetração no hospedeiro vertebrado (Skelly, Stein & Shoemaker, 1993; Santos et al., 1999). Por outro lado, particularmente no hospedeiro vertebrado, vários destes processos devem estar associados a mecanismos de escape imunológico. De fato, por meio da modulação da expressão de proteínas de superfície durante a maturação, alguns antígenos são retidos, outros desaparecem ou tornam-se inacessíveis à resposta imune, e novos antígenos são expressos (Simpson, 1990). O gene da proteína CaBP, ligadora de cálcio, é expresso em cercárias, mas não em miracídios e esporocistos, nem em vermes adultos (Ram et al., 1989). Proteínas hsp70 de *S. mansoni* mostram um padrão de expressão regulado pelo estresse. Os mRNAs para hsp70 variam de um nível próximo de zero, em cercárias, até altos níveis em esquistossômulos, alcançando um pico máximo seis horas após a transformação (Neumann et al., 1993). Um outro exemplo é o gene Sm16, que codifica para uma glicoproteína de superfície do parasito presente apenas nas fases de esporocisto, cercária e no início da fase de esquistossômulo. Devido ao fato de a proteína perder sua ligação à superfície do parasito na fase de esquistossômulo, logo após a entrada no hospedeiro definitivo, os autores que a caracterizaram propõem que a proteína desempenha um papel na interação do verme com os tecidos do hospedeiro, durante o processo de penetração (Bickle & Oldridge, 1999). Também foram identificados, em *S. mansoni*, genes tecido-específicos, sendo um exemplo TK4, que codifica uma tirosina cinase. Seus transcritos foram encontrados em todos os estágios de vida do parasito, embora nos vermes adultos tenham sido localizados apenas no parênquima, no subtegumento e principalmente nos oócitos e nos espermatócitos, indicando uma possível função da proteína no desenvolvimento das células germinativas do parasito (Knobloch et al., 2002). Outro gene, SmCB1 (endopeptidase 1 parecida com catepsina B de *S. mansoni*), codifica uma proteína presente apenas no lúmen e na gastroderme do intestino de vermes adultos. A proteína parece ter importância na alimentação do parasito no interior, bem como na sua evasão do sistema imune do hospedeiro definitivo, já que possui atividades exopeptídicas de degradação de hemoglobina e outras proteínas do soro do hospedeiro, como IgG (Sajid et al., 2003).

É bem conhecido que, em infecções com cercárias do sexo feminino, existe impedimento do desenvolvimento completo das fêmeas, indicando que o desenvolvimento das fêmeas de *S. mansoni* e o amadurecimento de sua função reprodutora dependem de sinais procedentes dos machos, presumivelmente moléculas expostas na superfície ou secretadas pelos parasitos machos (Grevelding, Sommer & Kunz, 1997). Quando os esquistossomos estão acasalados, vias de transdução de sinais são

estimuladas, resultando na expressão de numerosos genes específicos da fêmea, em amadurecimento sexual e deposição de ovos. Várias proteínas que se expressam em *S. mansoni* de forma sexo-dependente foram descritas (Dietzel et al., 1992; Michel et al., 2003). De particular interesse é a proteína precursora da casca do ovo, codificada pelo gene p14, que é sintetizado de acordo com um padrão específico ao sexo, tecido e estágio de desenvolvimento do parasito (Koster et al., 1988; Chen, Rekosh & LoVerde, 1992). Este gene é expresso nas células vitelinas de fêmeas maduras em resposta a estímulos provenientes do macho. Desta forma, o gene p14 tem sido utilizado como modelo para o estudo da expressão de proteínas específicas da fêmea do esquistossomo.

Mecanismos de Transdução de Sinal

As vias de sinalização intracelular transmitem informações da superfície celular para o núcleo, permitindo que a célula responda a estímulos provenientes de seu ambiente externo com modificações em seu padrão de expressão gênica. Muito pouco se conhece sobre as vias de sinalização intracelular atuantes nos esquistossomos (Wiest et al., 1992a, 1992b, 1994; Duvaux-Miret et al., 1993; Schussler et al., 1997b). Contudo, estas vias devem participar da fisiologia parasitária, do desenvolvimento do parasito, do direcionamento de migração dentro do hospedeiro, de mecanismos de evasiva imune, da interação entre vermes adultos machos e fêmeas. Além de estar envolvida nas interações entre o parasito e o hospedeiro, a transdução de sinais participa das interações entre vermes machos e fêmeas, resultando na iniciação e manutenção da diferenciação sexual das fêmeas e produção de ovos (Grevelding et al., 1997). Existem muitas evidências de que os vermes machos regulam a expressão gênica dos vermes fêmeas por meio de sinais desconhecidos (Chen et al., 1992; Grevelding, Sommer & Kunz, 1997), embora ainda não esteja esclarecida a natureza das vias transdutoras de sinais que resultam no desenvolvimento e diferenciação funcional das fêmeas do esquistossomo, culminando na expressão coordenada de vários genes na fêmea. Como já se destacou, o gene p14 se expressa especificamente nas fêmeas, tendo os seus elementos sido responsivos a receptores nucleares identificados antecedendo a região de início de transcrição, tais como seqüências repetitivas diretas e palíndromos imperfeitos (Freebern et al., 1999b). Alguns dos receptores nucleares envolvidos neste tipo de regulação já foram identificados e pertencem à superfamília dos receptores de retinóide X (RXR), tendo sido denominados SmRXR1 e SmRXR2 (Freebern et al., 1999a; Fantappie et al., 2001a). Em outras espécies, RXRs estão envolvidos na regulação de genes importantes para homeostase e desenvolvimento. SmRXR1 e SmRXR2 ligam-se a cis-elementos da região reguladora de p14, sendo capazes de ativar a transcrição de um gene repórter em levedura e podendo ser detectados nas células vitelinas da fêmea, o que sugere que desempenham um papel importante na regulação de processos biológicos específicos à fêmea de *Schistosoma* (Fantappie et al., 2001a). Contudo, ambos são expressos durante todo o ciclo de desenvolvimento no hospedeiro vertebrado, tanto em machos como em fêmeas, sugerindo que estejam envolvidos em diversos mecanismos regulatórios da expressão gênica, interagindo com diversas proteínas.

Os esquistossomos maduros residem na circulação porto-mesentérica, estando expostos, por sua superfície tegumentar, a várias moléculas potencialmente sinalizadoras, produzidas pelo hospedeiro ou por parasitos vizinhos, tais como anticorpos, fatores de crescimento, hormônios e citocinas. O tegumento parasitário representa a interface entre o parasito e os ambientes providos pelo hospedeiro, sendo esperado

que apresente diversos receptores de superfície. Para que o parasito possa sobreviver, dentro do sistema vascular do hospedeiro, em contato com os componentes do sistema imune, ele deve ser capaz de responder aos sinais provenientes do hospedeiro (Grevelding, Sommer & Kunz, 1997). Nesta direção, já foi demonstrado que receptores para fatores de crescimento e outras moléculas do hospedeiro estão presentes na superfície do parasito (Davies, Shoemaker & Pearce, 1998).

De fato, algumas moléculas receptoras importantes foram identificadas na superfície de *S. mansoni*, como por exemplo o receptor I serina/treonina quinase do fator-b de transformação de crescimento (TGF-β) (Davies, Shoemaker & Pearce, 1998). É possível que TGF-β ou ligantes semelhantes participem nas interações entre o parasito e o hospedeiro vertebrado ou na indução da maturação dos vermes fêmeas pelos vermes machos (Osman, Niles & LoVerde, 2001). O TGF-β faz parte de uma superfamília de polipeptídios secretados que regulam o desenvolvimento e a morfogênese, atuando sobre a migração, diferenciação, adesão, multiplicação e morte celular. Estes diferentes efeitos resultam de alterações na expressão de genes específicos, na dependência do tipo celular e estágio de desenvolvimento. Um representante da família Smad, uma das classes de transdutores intracelulares de sinais envolvidas na cascata de sinalização deflagrada por moléculas da superfamília TGF-β, foi recentemente identificada e caracterizada em *S. mansoni*, tendo sido denominado SmSmad2 (Osman, Niles & LoVerde, 2001). Estas proteínas citoplasmáticas transmitem o sinal de receptores ativados para o núcleo ou modulam a via de sinalização. SmSmad2 e alguns aspectos de sua atividade biológica foram estudados (Osman, Niles & LoVerde, 2001). Notou-se que SmSmad2 interage com o receptor de TGF-β de *S. mansoni* denominado SmTβRI, além de responder aos sinais produzidos por TGF-β se translocando para o núcleo, após fosforilação. A proteína SmSmad2 é constitutivamente expressa nos estágios de desenvolvimento presentes no hospedeiro vertebrado, sendo detectada no subtegumento, em células do parênquima, em tecidos especializados do verme fêmea (vitelária, útero e ovário) e verme macho (testículo). A localização no subtegumento possibilitaria a interação de SmTβRI, na superfície parasitária, com TGF-β ou ligantes semelhantes. Estes processos ainda não foram esclarecidos em vários aspectos; não se sabe, por exemplo, se o ligante seria derivado do hospedeiro ou do próprio parasito. Portanto, possivelmente, SmSmad2, além de participar do desenvolvimento de *S. mansoni* em geral, participa do amadurecimento sexual de seus vermes machos e fêmeas.

Outras moléculas descritas na superfície de *Schistosoma* têm participação no desenvolvimento e diferenciação sexual do parasito. Por exemplo, foi descrito que o fator de necrose tumoral α (TNF-α) estimulava a oviposição das fêmeas (Amiri et al., 1992). Um outro caso é o da proteína da família de proteínas Ras, identificada e caracterizada em *S. mansoni* e denominada SmRas (Osman et al., 1999). As proteínas Ras geralmente transmitem sinais de um receptor tirosina-quinase (RTK), ativado na superfície celular por vários fatores de crescimento e hormônios peptídicos, para efetores citoplasmáticos e para o núcleo, onde fatores de transcrição regulam a expressão gênica, e conseqüentemente afetam o crescimento e a diferenciação celular. SmRas se expressa nos compartimentos solúveis de todos os estágios de desenvolvimento do parasito. Apesar de provavelmente SmRas estar envolvida no crescimento, proliferação e diferenciação das células do parasito em todo o ciclo de vida, ainda não foram definidos com clareza os processos biológicos, do parasito, em que SmRas participaria.

PROMOTORES, FATORES DE TRANSCRIÇÃO E RECEPTORES NUCLEARES

Em *S. mansoni* tem sido demonstrado que regiões precedentes do sítio inicial de transcrição de vários genes apresentam segmentos provavelmente promotores, contendo vários motivos e seqüências consensuais homólogas a diversos organismos eucariotas, fazendo supor que sejam reconhecidas por fatores de transcrição homólogos. Algumas destas regiões reguladoras incluem os elementos de choque térmico, boxes CCAAT e Tata, elementos favorecedores (*enhancers*) e sítios AP-1 (Henkle et al., 1990; Abath et al., 1994, 2000; Zemzoumi et al., 1995, 1996).

A possível função de muitas proteínas reguladoras da expressão gênica e síntese protéica em *S. mansoni* foi inferida a partir da homologia com outras proteínas de função conhecida, presentes em outros organismos. Desta forma, foi identificado o fator 1-a de elongação de *S. mansoni* (Schussler et al., 1997a), sem, contudo, serem apresentadas evidências experimentais de sua atividade biológica. Em organismos eucarióticos, o fator de elongação 1- a (EF1- a) é uma proteína multifuncional que regula a síntese protéica e *turn-over*, atuando ao nível de ribossomo, proteassomos e transdução de sinais. Da mesma forma, foi identificado em *S. mansoni*, por homologia, o gene completo codificando uma proteína *zinc finger*, que foi clonado e caracterizado estruturalmente e denominado SmZF1 (Eleutério de Souza et al., 2001). Várias proteínas reguladoras da transcrição contêm em sua estrutura motivos *zinc finger*, que são responsáveis pela ligação a seqüências de DNA. A proteína resultante apresentava três motivos *zinc finger*, estando o mRNA presente em ovos, cercárias, esquistossômulos e vermes adultos. As propriedades ligantes de SmZF1 foram estudadas (Calzavara-Silva et al., 2004), embora falte ser esclarecido o papel desta proteína regulatória na biologia do parasito.

Além disso, foi identificado um fator de transcrição, denominado SMYB1, em *S. mansoni*, homólogo às proteínas ligantes de Y-box (YBPs) ao motivo CCAAT. As YBPs consistem em uma família de proteínas regulatórias que contêm um domínio ligante de Y-box bastante conservado, o domínio de choque frio (*cold-shock domain*). As YBPs de eucariotas possuem um domínio carboxi-terminal, que permite interações de maior complexidade. Apesar de a função biológica de Smybi não ter sido definida, esta proteína se liga ao motivo CCAAT (anti-senso), caracterizando-a como componente da superfamília das YBPs (Valadão et al., 2002). A região reguladora do gene codificando Sm28GST contém várias seqüências reguladoras, incluindo boxes CCAAT, que foram denominados Y1, Y2 e Y3. A funcionalidade desta região promotora foi demonstrada pela capacidade de ativação da maquinaria transcricional em linhagens heterólogas. Foi demonstrado que o box Y1 é reconhecido pelo fator ligante de CCAAT denominado NF-Y (também chamado CBF e CP-1), assim como também foi demonstrado o envolvimento de SmNF-YA na interação com os elementos Y2 e Y3, embora com diferentes afinidades (Zemzoumi et al., 1996; Serra et al., 1996a). NF-Y é um complexo heteromérico ubíquo que se liga a promotores de vários genes eucariotas. Recentemente, foi caracterizado em *S. mansoni* um gene (Smftz-f1) codificando um receptor nuclear homólogo a membro da família gênica FTZ-F1 (de Mendonça et al., 2002). Os produtos gênicos participam do desenvolvimento e diferenciação sexual de vertebrados e artrópodes, supondo-se que possam desempenhar funções semelhantes em *Schistosoma*. Essa idéia é reforçada pela constatação de que o receptor nuclear FTZ-F1 de *S. mansoni* conserva as características funcionais básicas da subfamília, por exemplo: ele se liga ao elemento de resposta monomérico com a mesma especificidade que o fator esteroidogênico (SF-1) de mamíferos. Além disto, o receptor pode transativar a transcrição de um gene repórter em células de

mamíferos. Smftz-f1 pode ser detectado em todos os estágios do ciclo de vida do parasito. Entretanto, o mRNA é mais abundante em miracídios, esporocistos e cercárias, em contraste com a proteína, que é mais expressa em vermes adultos machos e cercárias, o que sugere que Smftz-f1 é importante para a invasão e necessária adaptação ao hospedeiro definitivo. Recentemente, de Moraes et al. (2004) caracterizaram uma proteína homóloga a GCN5 (*gender control nonrepressed*) de *Drosophila* contendo um domínio HAT (histona acetiltransferase). Além de ser capaz de acetilar, *in vitro*, as histonas H3 e H2A, atuando na remodelação da cromatina, a proteína contém também um domínio de ligação a receptores nucleares. Isso indica que GCN5 de *S. mansoni* pode atuar como um co-fator na regulação gênica, ligando, pela primeira vez no parasito, a acetilação de histonas e o controle da transcrição gênica.

SPLICING ALTERNATIVO, *TRANS-SPLICING* E PROCESSAMENTO PÓS-TRADUCIONAL COMO MECANISMOS REGULATÓRIOS

Os mecanismos regulatórios também incluem aqueles que alteram a diversidade de proteínas. Dentre os quais, pode-se mencionar a utilização de sítios múltiplos de iniciação de transcrição, *splicing* alternativo de pré-mRNA, poliadenilação, edição de pré-mRNA e modificações pós-traducionais (Maniatis & Tasic, 2002). O *splicing* alternativo de pré-mRNA é o processo em que mensageiros maduros múltiplos são gerados a partir do mesmo pré-mRNA, pela junção diferencial de sítios aceptores e doadores. Por exemplo, éxons podem ser estendidos ou encurtados, ignorados ou incluídos; íntrons podem ser removidos ou retidos no mRNA. Existem proteínas especializadas na regulação do *splicing*. Para ilustrar o *splicing* alernativo, será discutida a regulação da sínese de fatores de transcrição para choque térmico (Lantner et al., 1998). Os genes de *S. mansoni*, codificando Hsp70, são regulados por dois mecanismos:

- indução de *stress*, que se refere ao acúmulo transitório do mRNA durante a transformação de cercárias em esquistossômulos e em vermes adultos submetidos a elevação de temperatura;
- programa de desenvolvimento, se referindo a expressão constitutiva em miracídios, esporocistos e vermes adultos, mas não cercárias (Neumann et al., 1993).

A estrutura do promotor do gene Hsp70 de *S. mansoni* se assemelha a de outros promotores de Hsp70, contendo dois elementos de choque térmico reconhecidos pelos fatores de transcrição para choque térmico (HSF). Os esquistossomos apresentam formas diferentes de HSF nos seus diversos estágios de desenvolvimento (Levy-Holtzman & Schechter, 1996). O estudo de vários genes codificando múltiplas formas de HSF sugere que tal diversidade é produzida por *splicing* alternativo, em regiões destituídas de íntrons, sem quebra da janela de leitura (Lantner et al., 1998). Este parece ser um mecanismo peculiar de regulação do mRNA codificando HSF, durante o ciclo de vida do parasito. A presença de múltiplos HSF em uma espécie possibilita que cada fator possa ter um papel diferente na regulação da transcrição de genes Hsp. Os vermes adultos de *S. mansoni* apresentam três isoformas de mRNA para HSF gerados por *splicing* alternativo. As cercárias também apresentam mRNAs múltiplos, contudo nelas o *splicing* alternativo provavelmente altera a janela de leitura e inativa as moléculas de HSF. De acordo com esta hipótese, os esporocistos e vermes adultos apresentam tanto mRNA para HSF como Hsp70. Diferentemente, as cercárias apresentam níveis altos de formas múltiplas de mRNA para HSF, que estão ausentes em esporocistos e

vermes adultos, e mRNA para Hsp70 não detectável. Esta relação inversa sugere que as moléculas de mRNA para HSF em cercárias sejam inativas (Lantner et al., 1998).

Existe uma outra forma de *splicing* chamada de *trans-splicing*. Através do mecanismo de *trans-splicing*, éxons derivados de RNAs independentemente transcritos são unidos de maneira precisa. No *trans-splicing* com adição de *spliced leader*, uma seqüência líder é doada da extremidade 5' de um RNA pequeno não poliadenilado a pré-mRNAs, de forma a produzir um éxon 5' terminal de mRNAs maduros (Davis, 1996; Davis & Hodgson, 1997). A adição de seqüência líder ocorre em protozoários cinetoplastídeos, nematódeos e trematódeos. Contudo, apenas uma pequena fração de RNAs sofre *trans-splicing* em *S. mansoni* (Rajkovic et al., 1990; Da'dara et al., 2001).

A regulação coordenada de genes pode ser alcançada por meio de síntese de um mRNA policistrônico. Neste contexto, uma das funções do *trans-splicing* poderia ser a de clivar RNAs policistrônicos em monocistrônicos (Hirsh, 1994; Davis & Hodgson, 1997). Possivelmente, as seqüências líderes também seriam úteis ao fornecerem sítios de início de tradução apropriados ou proteção de mRNAs de degradação. Portanto, o *trans-splicing* pode ser considerado um mecanismo pós-transcricional de regulação gênica, apesar de não produzir diversidade protéica.

O processamento proteolítico pós-traducional é um mecanismo comum e eficiente de regulação fisiológica (Neurath, 1989), também consistindo em mecanismo de regulação funcional de proteínas. O processamento proteolítico ocorre de diversas maneiras e resulta na clivagem de ligações peptídicas específicas no precursor das proteínas-alvo. Ele ocorre rapidamente como resposta a determinado tipo de sinal, produzindo uma alteração irreversível que orienta a destinação ou tempo de aparecimento da atividade da proteína-alvo. Esta proteólise limitada depende da especificidade da protease processadora e da acessibilidade das ligações peptídicas-alvo à ação da protease. Geralmente, o processamento proteolítico transforma um precursor inativo em uma proteína biologicamente ativa, mas pode também alterar a imunogenicidade do precursor. Este é o caso, por exemplo, do precursor do antígeno Sm15 (Abath et al., 1993, 1994; Werkhauser et al., 2000), que é altamente processado durante a maturação, possibilitando que o parasito expresse diferentes produtos do mesmo precursor em diferentes estágios do ciclo de vida do parasito. Este mecanismo regulatório foi proposto como um novo mecanismo de evasiva imune, evitando a presença de antígenos-alvo e resposta imune protetora nos estágios adultos do parasito (Abath & Werkhauser, 1996). A família de antígenos A1. 12/9 foi descrita como um grupo de oito antígenos, e também podem resultar de processamento proteolítico diferencial (Havercroft & Smith, 1993).

PERSPECTIVAS

As análises funcionais dos promotores de *S. mansoni* são ainda limitadas, devido ao ciclo de vida do parasito, assim como à ausência de linhagens celulares e modelos transgênicos estáveis. Espera-se que avanços na manipulação do genoma e na expressão de genes permitam análises funcionais em *S. mansoni*, ainda bastante restritas. Dois projetos de seqüenciamento, em larga escala, de transcritos foram recentemente finalizados, e análises globais dos seus resultados devem gerar dados interessantes sobre a biologia do organismo. A disponibilidade destas informações é essencial para que estudos de perfil de expressão global de genes e estudos proteômicos tenham máxima eficiência. Uma lista de *sites* de interesse na

internet pode ser verificada no Quadro 1. O envolvimento dos grupos de pesquisa com a bioinformática para se explorar o imenso volume de dados de modo eficiente será essencial. Imprescindível para o entendimento da biologia de *S. mansoni* será o domínio de como a expressão do genoma é regulada e como as proteínas e outras biomoléculas interagem para a produção do fenótipo observado. Certamente muitos anos, senão décadas de estudo, serão necessárias para uma ampla compreensão de mecanismos moleculares que estruturam e regulam a fisiologia de *Schistosoma.* Porém, esse entendimento é fundamental para que novas drogas e vacinas sejam desenvolvidas.

Quadro 1 – *Sites* de interesse na internet

Descrição	Endereço do *Site*
NCBI – projeto genoma de *Schistosoma mansoni*	www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview/map00.cgi?taxid=6183/
Sanger	www.genedb.org/
Tigr	www.tigr.org/tdb/e2k1/sma1/
SchistoDB	www.schistodb.net/
RGMG	rgmg.cpqrr.fiocruz.br/
Onsa	verjo18.iq.usp.br/schisto/

REFERÊNCIAS

ABATH, F. G. & WERKHAUSER, R. C. The tegument of *Schistosoma mansoni*: functional and immunological features. *Parasite Immunology*, 18: 15-20, 1996.

ABATH, F. G. et al. Structure of the gene encoding a putative *Schistosoma mansoni* tegumental antigen precursor. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 60: 81-91, 1993.

ABATH, F. G. et al. Partial characterization and kinetics of expression of Sm15, a *Schistosoma mansoni* tegumental antigen. *Parasitology Research*, 80: 64-69, 1994.

ABATH, F. G. et al. Characterization of Sm13, a Tegumental Antigen of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology Research*, 86: 745-752, 2000.

ADAMS, M. D. et al. Complementary DNA sequencing: expressed sequence tags and human genome project. *Science*, 252: 1.651-1.656, 1991.

ALTSCHUL, S. F. et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25: 3.389-3.402, 1997.

AMIRI, P. et al. Tumour necrosis factor alpha restores granulomas and induces parasite egg-laying in schistosome-infected SCID mice. *Nature*, 356: 604-607, 1992.

ARGIRO, L. et al. Production of Sm37-GAPDH, a major therapeutical target in human schistosomiasis. *Biotechnology and Bioengineering*, 68: 136-141, 2000.

ARONHEIM, A. & KARIN, M. Analysis and identification of protein-protein interactions using protein recruitment systems. *Methods in Enzymology*, 328: 47-59, 2000.

ASHLEY, M. V. & DOW, B. D. The use of microsatellite analysis in population biology: background, methods and potential applications. *EXS*, 69: 185-201, 1994.

ASHTON, P. D.; CURWEN, R. S. & WILSON, R. A. Linking proteome and genome: how to identify parasite proteins. *Trends in Parasitology*, 17: 198-202, 2001.

BARKER, G. C. Microsatellite DNA: a tool for population genetic analysis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 96, supl. 1: S21-S24, 2002.

BICKLE, Q. D. & OLDRIDGE, J. Characterization of a stage-specific Mr16000 schistosomular surface glycoprotein antigen of *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 100: 85-94, 1999.

BISHOP, J. O. The gene numbers game. *Cell*, 2: 81-86, 1974.

BLAIR, D.; DAVIS, G. M. & WU, B. Evolutionary relationships between trematodes and snails emphasizing schistosomes and paragonimids. *Parasitology*, 123, supl: S229-S243, 2001.

BOYLE, J. P. & YOSHINO, T. P. Gene manipulation in parasitic helminths. *International Journal for Parasitology*, 33: 1.259-1.268, 2003.

BOYLE, J. P. et al. Using RNA interference to manipulate endogenous gene expression in *Schistosoma mansoni* sporocysts. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 128: 205-215, 2003.

BRASCHI, S. et al. The tegument surface membranes of the human blood parasite *Schistosoma mansoni*: a proteomic analysis after differential extraction. *Proteomics*, 6: 1.471-1.482, 2006.

BRINDLEY, P. J. et al. Mobile genetic elements colonizing the genomes of metazoan parasites. *Trends in Parasitology*, 19: 79-87, 2003.

BRIVANLOU, A. H. & DARNELL JR, J. E. Signal transduction and the control of gene expression. *Science*, 295: 813-818, 2002.

BUSEK, S. et al. Cis-Acting elements, CArG-, E-, CCAAT- and TATA-Boxes may be involved in sexually regulated gene transcription in *Schistosoma mansoni*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97, supl. 1: 85-90, 2002.

CALZAVARA-SILVA, C. E. et al. Nucleic acid binding properties of SmZF1, a zinc finger protein of *Schistosoma mansoni*. *International Journal for Parasitology*, 34: 1.211-1.219, 2004.

CARMELL, M. A. et al. Germline transmission of RNAi in Mice. *Nature Structural Biology*, 10: 91-92, 2003.

CHEN, L. L.; REKOSH, D. M. & LOVERDE, P. T. *Schistosoma mansoni* P48 eggshell protein gene: characterization, developmentally regulated expression and comparison to the P14 eggshell protein gene. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 52: 39-52, 1992.

CHRISTENDAT, D. et al. Structural proteomics: prospects for high throughput sample preparation. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 73: 339-345, 2000.

COOK, R. M. et al. Nucleic acid vaccination with *Schistosoma mansoni* antioxidant enzyme cytosolic superoxide dismutase and the structural protein filamin confers protection against the adult worm stage. *Infection and Immunity*, 72: 6.112-6.124, 2004.

COPELAND, C. S. et al. Boudicca, a retrovirus-like long terminal repeat retrotransposon from the genome of the human blood fluke *Schistosoma mansoni*. *Journal of Virology*, 77: 6.153-6.166, 2003.

CORRENTI, J. M.; BRINDLEY, P. J. & PEARCE, E. J. Long-term suppression of cathepsin B levels by RNA interference retards schistosome growth. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 143: 209-215, 2005.

CURTIS, J. & MINCHELLA, D. J. Schistosome population genetic structure: when clumping worms is not just splitting hairs. *Parasitology Today*, 16: 68-71, 2000.

DA'DARA, A. et al. *Schistosoma mansoni*: molecular characterization of a tegumental Ca-ATPase (SMA3). *Experimental Parasitology*, 98: 215-222, 2001.

DAVIE, J. R. & SPENCER, V. A. Control of histone modifications. *Journal of Cellular Biochemistry*, 32-33, supl: 141-148, 1999.

DAVIES, S. J.; SHOEMAKER, C. B. & PEARCE, E. J. A Divergent member of the transforming growth factor beta receptor family from *Schistosoma mansoni* is expressed on the parasite surface membrane. *The Journal of Biological Chemistry*, 273: 11.234-11.240, 1998.

DAVIS, A. H. et al. Isolation of CDNA clones for differentially expressed genes of the human parasite *Schistosoma mansoni*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 83: 5.534-5.538, 1986.

DAVIS, R. E. Spliced leader RNA trans-splicing in metazoa. *Parasitology Today*, 12: 33-40, 1996.

DAVIS, R. E. & HODGSON, S. Gene linkage and steady state RNAs suggest trans-splicing may be associated with a polycistronic transcript in *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 89: 25-39, 1997.

DAVIS, R. E. et al. Transient expression of DNA and RNA in parasitic helminths by using particle bombardment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 96: 8.687-8.692, 1999.

DE MENDONÇA, R. L. et al. A Functionally conserved member of the FTZ-F1 nuclear receptor family from *Schistosoma mansoni*. *European Journal of Biochemistry*, 269: 5.700-5.711, 2002.

DE MORAES, M. R. et al. *Schistosoma mansoni* Histone acetyltransferase GCN5: linking histone acetylation to gene activation. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 133: 131-135, 2004.

DEHIO, C. & SCHELL, J. Identification of plant genetic loci involved in a posttranscriptional mechanism for meiotically reversible transgene silencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 91: 5.538-5.542, 1994.

DEMARCO, R. et al. Saci-1, -2, and -3 and Perere, four novel retrotransposons with high transcriptional activities from the human parasite *Schistosoma mansoni*. *Journal of Virology*, 78: 2.967-2.978, 2004.

DESPRES, L.; IMBERT-ESTABLET, D. & MONNEROT, M. Molecular characterization of mitochondrial DNA provides evidence for the recent introduction of *Schistosoma mansoni* into America. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 60: 221-229, 1993.

DIETZEL, J. et al. Ferritins of *Schistosoma mansoni*: sequence comparison and expression in female and male worms. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 50: 245-254, 1992.

DORSETT, Y. & TUSCHL, T. SiRNAs: Applications in functional genomics and potential as therapeutics. *Nature Reviews/Drug Discovery*, 3: 318-329, 2004.

DREW, A. C. & BRINDLEY, P. J. A retrotransposon of the non-long terminal repeat class from the human blood fluke *Schistosoma mansoni*. Similarities to the chicken-repeat-1-like elements of vertebrates. *Molecular Biology and Evolution*, 14: 602-610, 1997.

DREW, A. C. et al. SR2 elements, non-long terminal repeat retrotransposons of the RTE-1 lineage from the human blood fluke *Schistosoma mansoni*. *Molecular Biology and Evolution*, 16: 1.256-1.269, 1999.

DURAND, P.; SIRE, C. & THERON, A. Isolation of microsatellite markers in the digenetic trematode *Schistosoma mansoni* from Guadeloupe Island. *Molecular Ecology*, 9: 997-998, 2000.

DUVAUX-MIRET, O. et al1993. *Schistosoma mansoni*: an enkephalinergic system that may participate in internal and host-parasite signaling. *Experimental Parasitology*, 76: 76-84, 2000.

EISENBERG, D. et al. Protein function in the post-genomic era. *Nature*, 405: 823-826, 2000.

EL SAYED, N. M. et al. Advances in schistosome genomics. *Trends in Parasitology*, 20: 154-157, 2004.

ELEUTERIO DE SOUZA, P. R. et al. Cloning and characterization of SmZF1, a gene encoding a *Schistosoma mansoni* zinc finger protein. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96, supl.: 123-130, 2001.

FANTAPPIE, M. R. & RUMJANEK, F. D. Characterization of a HMG2-like protein from *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 108 (1): 43-50, 1994.

FANTAPPIE, M. R.; GIMBA, E. R. & RUMJANEK, F. D. Lack of DNA methylation in *Schistosoma mansoni*. *Experimental Parasitology*, 98: 162-166, 2001b.

FANTAPPIE, M. R. et al. Evaluation of *Schistosoma mansoni* retinoid X receptor (SmRXR1 and SmRXR2) activity and tissue distribution. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 115: 87-99, 2001a.

FEARON, E. R. et al. Karyoplasmic interaction selection strategy: a general strategy to detect protein-protein interactions in mammalian cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 89: 7.958-7.962, 1992.

FERBEYRE, G.; SMITH, J. M. & CEDERGREN, R. Schistosome satellite DNA encodes active hammerhead ribozymes. *Molecular and Cellular Biology*, 18: 3.880-3.888, 1998.

FIELDS, S. & SONG, O. A novel genetic system to detect protein-protein Interactions. *Nature*, 340: 245-246, 1989.

FIRE, A. RNA-triggered gene silencing. *Trends in Genetics*, 15: 358-363, 1999.

FIRE, A. et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in caenorhabditis elegans. *Nature*, 391: 806-811, 1998.

FRANCO, G. R. Rede Mineira de sequenciamento: o estudo do transcriptoma do parasito *Schistosoma mansoni*. *Bioscience Journal*, (volume especial): 93-100, 2004.

FRANCO, G. R. & SIMPSON, A. J. Schistosomiasis. In: MAHMOUD, A. *The Structure and Expression of the Schistosoma Genome*. London: World Sciencific, 2001.

FRANCO, G. R. et al. Identification of new *Schistosoma mansoni* genes by the est strategy using a directional CDNA library. *Gene*, 152: 141-147, 1995.

FRANCO, G. R. et al. The Schistosoma Gene Discovery Program: state of the art. *International Journal for Parasitology*, 30: 453-463, 2000.

FREEBERN, W. J.; NILES, E. G. & LOVERDE, P. T. RXR-2, a member of the retinoid X receptor family in *Schistosoma mansoni*. *Gene*, 233: 33-38, 1999.

FREEBERN, W. J. et al. Identification of a CDNA encoding a retinoid X receptor homologue from *Schistosoma mansoni*. Evidence for a role in female-specific gene expression. *The Journal of Biological Chemistry*, 274: 4.577-4.585, 1999.

GOLOGAN, A et al. Performance of the revised bethesda guidelines for identification of colorectal carcinomas with a high level of microsatellite instability. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 129: 1.390-1.397, 2005.

GRASSER, K. D. Chromatin-associated HMGA and HMGB proteins: versatile co-regulators of DNA-dependent processes. *Plant Molecular Biology*, 53: 281-295, 2003.

GREVELDING, C. G.; SOMMER, G. & KUNZ, W. Female-specific gene expression in *Schistosoma mansoni* is regulated by pairing. *Parasitology*, 115(6): 635-640, 1997.

GROSSMAN, A. I.; MCKENZIE, R. & CAIN, G. D. Sex heterochromatin in *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology*, 66: 368-370, 1980.

GROSSMAN, Z. et al. *Schistosoma mansoni*: stage-specific expression of muscle-specific genes. *Experimental Parasitology*, 70: 62-71, 1990.

HAMBURGER, J. et al. Highly repeated short DNA sequences in the genome of *Schistosoma mansoni* recognized by a species-specific probe. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 44: 73-80, 1991.

HAMBURGER, J. et al. Identification of schistosome-infected snails by detecting schistosomal antigens and DNA sequences. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87, supl. 4: 243-247, 1992.

HAMILTON, A. J. & BAULCOMBE, D. C. A Species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants. *Science*, 286: 950-952, 1999.

HARROP, R.; COULSON, P. S. & WILSON, R. A. Characterization, cloning and immunogenicity of antigens released by lung-stage larvae of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 118(6): 583-594, 1999.

HAVERCROFT, J. C. & SMITH, A. L. Localization of the A1.12/9 antigen family to the neurones, putative sensory receptors and tegument of *Schistosoma mansoni*. *Parasite Immunology*, 15: 361-371, 1993.

HEATON, M. P. et al. Estimation of DNA sequence diversity in bovine cytokine genes. *Mammalian Genome*, 12: 32-37, 2001.

HENKLE, K. J. et al. Comparison of the cloned genes of the 26- and 28-kilodalton glutathione s-transferases of *Schistosoma japonicum* and *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 40: 23-34, 1990.

HEYERS, O. et al. *Schistosoma mansoni* miracidia transformed by particle bombardment infect biomphalaria glabrata snails and develop into transgenic sporocysts. *Experimental Parasitology*, 105: 174-178, 2003.

HIRSH, D. Molecular genetics: operons in eukaryotes follow the spliced leader. *Nature*, 372: 222-223, 1994.

HIRAI, H. Relationship of telomere sequence and constitutive heterochromatin in the human and apes as detected by PRINS. *Methods in Cell Science*, 23: 29-35, 2001.

HIRAI, H. & LOVERDE, P. T. Fish Techniques for Constructing Physical Maps on Schistosome Chromosomes. *Parasitology Today*, 11: 310-314, 1995.

HIRAI, H. & LOVERDE, P. T. Identification of the telomeres on *Schistosoma mansoni* chromosomes by FISH. *The Journal of Parasitology*, 82: 511-512, 1996.

HIRAI, H.; TANAKA, M. & LOVERDE, P. T. *Schistosoma mansoni*: chromosomal localization of female-specific genes and a female-specific DNA element. *Experimental Parasitology*, 76: 175-181, 1993.

HOFFMANN, K. F. & STRAND, M. Molecular identification of a *Schistosoma mansoni* tegumental protein with similarity to cytoplasmic dynein light chains. *The Journal of Biological Chemistry*, 271: 26.117-26.123, 1996.

JANNOTTI-PASSOS, L. K. et al. PCR amplification of the mitochondrial DNA minisatellite region to detect *Schistosoma mansoni* infection in *Biomphalaria glabrata* snails. *The Journal of Parasitology*, 83: 395-399, 1997.

JOUNG, J. K.; RAMM, E. I. & PABO, C. O. A bacterial two-hybrid selection system for studying protein-DNA and protein-protein interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 97: 7.382-7.387, 2000.

JUDSON, R. & STEPHENS, J. C. Notes from the SNP Vs. haplotype front. *Pharmacogenomics*, 2: 7-10, 2001.

KHALIFE, J.; GODIN, C. & CAPRON, A. Transcriptional regulation of *Schistosoma mansoni* calreticulin: possible role of AP-1. *Parasitology*, 111(4): 469-475, 1995.

KIM, J. K. et al. Functional genomic analysis of RNA interference in C. elegans. *Science*, 308: 1.164-1.167, 2005.

KINES, K. J. et al. Transduction of *Schistosoma mansoni* by vesicular stomatitis virus glycoprotein-pseudotyped moloney murine leukemia retrovirus. *Experimental Parasitology*, 112(4): 209-220, 2006.

KNOBLOCH, J. et al. A novel syk-family tyrosine kinase from *Schistosoma mansoni* which is preferentially transcribed in reproductive organs. *Gene*, 294: 87-97, 2002.

KOSTER, B. et al. Identification and localisation of the products of a putative eggshell precursor gene in the vitellarium of *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 31: 183-198, 1988.

LAHA, T. et al. Gulliver, a long terminal repeat retrotransposon from the genome of the oriental blood fluke *Schistosoma japonicum*. *Gene*, 264: 59-68, 2001.

LAI, E. Application of SNP technologies in medicine: lessons learned and future challenges. *Genome Research*, 11: 927-929, 2001.

LANTNER, F. et al. Different forms of the MRNA encoding the heat-shock transcription factor are expressed during the life cycle of the parasitic helminth *Schistosoma mansoni*. *European Journal of Biochemistry*, 253: 390-398, 1998.

LE PASLIER, M. C. et al. Construction and characterization of a *Schistosoma mansoni* bacterial artificial chromosome library. *Genomics*, 65: 87-94, 2000.

LE, T. H.; BLAIR, D. & MCMANUS, D. P. Mitochondrial genomes of human helminths and their use as markers in population genetics and phylogeny. *Acta Tropica*, 77: 243-256, 2000.

LE, T. H.; BLAIR, D. & MCMANUS, D. P. Mitochondrial genomes of parasitic flatworms. *Trends in Parasitology*, 18: 206-213, 2002.

LEVY-HOLTZMAN, R. & SCHECHTER, I. Activity of the promoter of the Hsp70 gene of the parasitic helminth *Schistosoma mansoni* in the mammalian CHO cell-line. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1.263: 96-98, 1995.

LEVY-HOLTZMAN, R. & SCHECHTER, I. Expression of different forms of the heat-shock factor during the life cycle of the parasitic helminth *Schistosoma mansoni*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1.317: 1-4, 1996.

LIANG, P. & PARDEE, A. B. Differential display of eukaryotic messenger RNA by means of the polymerase chain reaction. *Science*, 257: 967-971, 1992.

LIANG, F. et al. An optimized protocol for analysis of EST sequences. *Nucleic Acids Research*, 28: 3.657-3.665, 2000.

LOCKYER, A. E. et al. The phylogeny of the schistosomatidae based on three genes with emphasis on the interrelationships of *Schistosoma* weinland, 1858. *Parasitology*, 126: 203-224, 2003.

MALIK, H. S. & EICKBUSH, T. H. The RTE class of Non-LTR retrotransposons is widely distributed in animals and is the origin of many SINEs. *Molecular Biology and Evolution*, 15: 1.123-1.134, 1998.

MANIATIS, T. & TASIC, B. Alternative pre-MRNA splicing and proteome expansion in metazoans. *Nature*, 418: 236-243, 2002.

MARTINEZ-ARIAS, R. et al. Sequence variability of a human pseudogene. *Genome Research*, 11: 1.071-1.085, 2001.

MARX, K. A. et al. Experimental DNA melting behavior of the three major *Schistosoma* species. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 107(2): 303-307, 2000.

MEI, H. & LOVERDE, P. T. *Schistosoma mansoni*: the developmental regulation and immunolocalization of antioxidant enzymes. *Experimental Parasitology*, 86: 69-78, 1997.

MELONI, R.; BIGUET, N. F. & MALLET, J. Post-genomic era and gene discovery for psychiatric diseases: there is a new art of the trade? The example of the HUMTH01 microsatellite in the tyrosine hydroxylase gene. *Molecular Neurobiology*, 26: 389-403, 2002.

MEYNE, J.; RATLIFF, R. L. & MOYZIS, R. K. Conservation of the human telomere sequence (TTAGGG)n among vertebrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 86: 7.049-7.053, 1989.

MICHEL, A.; KNOBLOCH, J. & KUNZ, W. P19: a female and tissue specifically expressed gene in *Schistosoma mansoni*, regulated by pairing with the male. *Parasitology*, 127: 519-524, 2003.

MILLER, R. T. et al. A Comprehensive approach to clustering of expressed human gene sequence: the sequence tag alignment and consensus knowledge base. *Genome Research*, 9: 1.143-1.155, 1999.

MOYZIS, R. K. et al. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 85: 6.622-6.626, 1988.

NAPOLI, C.; LEMIEUX, C. & JORGENSEN, R. Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible co-suppression of homologous genes in trans. *The Plant Cell*, 2: 279-289, 1990.

NEUMANN, S. et al. Regulation of HSP70 gene expression during the life cycle of the parasitic helminth *Schistosoma mansoni*. *European Journal of Biochemistry*, 212: 589-596, 1993.

NEURATH, H. Proteolytic processing and physiological regulation. *Trends in Biochemical Sciences*, 14: 268-271, 1989.

OLIVEIRA, G. & JOHNSTON, D. A. Mining the schistosome DNA sequence database. *Trends in Parasitology*, 17: 501-503, 2001.

OLIVEIRA, G.; BUSEK, S. & CORREA-OLIVEIRA, R. Transcription levels of two actin genes (SmAct and SmAct2), cytochrome C oxidase subunit II (SmCOXII), triosephosphate isomerase (TPI), and a putative translation regulatory protein EIF-5 during the first seven days of in vitro development of *Schistosoma mansoni* Schistosomula. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93, supl. 1: 215-217, 1998.

OLIVEIRA, G. et al. Genome and genomics of schistosomes. *Canadian Journal of Zoology Submited*, 82(2): 375-390, 2004a.

OLIVEIRA, G. C. et al. Genome and genomics of schistosomes. *Canadian Journal of Zoology*, 82: 377-390, 2004b.

OSMAN, A.; NILES, E. G. & LOVERDE, P. T. Characterization of the ras homologue of *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 100: 27-41, 1999.

OSMAN, A.; NILES, E. G. & LOVERDE, P. T. Identification and characterization of a Smad2 homologue from *Schistosoma mansoni*, a transforming growth factor-beta signal transducer. *The Journal of Biological Chemistry*, 276: 10.072-10.082, 2001.

PANDEY, A. & MANN, M. Proteomics to study genes and genomes. *Nature*, 405: 837-846, 2000.

PENA, H. B. et al. Intracellular promiscuity in *Schistosoma mansoni*: nuclear transcribed DNA sequences are part of a mitochondrial minisatellite region. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 92: 915-919, 1995.

PONTES, L. A.; DIAS-NETO, E. & RABELLO, A. Detection by polymerase chain reaction of *Schistosoma mansoni* DNA in human serum and feces. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 66: 157-162, 2002.

RABELO, E. M. et al. Extraction and partial characterization of non-histone nuclear proteins of *Schistosoma mansoni*. *Journal of Cellular Biochemistry*, 49: 172-180, 1992.

RAFALSKI, A. Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. *Current Opinion in Plant Biology*, 5: 94-100, 2002.

RAJKOVIC, A. et al. A spliced leader is present on a subset of MRNAs from the human parasite *Schistosoma mansoni*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 87: 8.879-8.883, 1990.

RAM, D. et al. Rapid changes in the expression of a gene encoding a calcium-binding protein in *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 34: 167-175, 1989.

REEVES, R. H. Functional genomics: a time and place for every gene. *Nature*, 420: 518-519, 2002.

RODRIGUES, N. B. et al. Populational structure of *Schistosoma mansoni* assessed by DNA microsatellites. *International Journal for Parasitology*, 32: 843-851, 2002a.

RODRIGUES, N. B. et al. Characterization of new *Schistosoma mansoni* microsatellite loci in sequences obtained from public DNA databases and microsatellite enriched genomic libraries. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97, supl. 1: 71-75, 2002b.

ROTH, S. Y.; DENU, J. M. & ALLIS, C. D. Histone acetyltransferases. *Annual Review of Biochemistry*, 70: 81-120, 2001.

SACHIDANANDAM, R. et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature*, 409: 928-933, 2001.

SAJID, M. et al. Functional expression and characterization of *Schistosoma mansoni* cathepsin B and its trans-activation by an endogenous asparaginyl endopeptidase. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 131: 65-75, 2003.

SANTOS, T. M. et al. Analysis of the gene expression profile of *Schistosoma mansoni* cercariae using the expressed sequence tag approach. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 103: 79-97, 1999.

SCHECHTMAN, D. et al. Expression and immunolocalization of the 14-3-3 protein of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 123: 573-582, 2001.

SCHLOTTERER, C. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma*, 109: 365-371, 2000.

SCHUSSLER, P.; GREVELDING, C. G. & KUNZ, W. Cloning and characterization of elongation factor 1-alpha of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology Research*, 83: 206-208, 1997a.

SCHUSSLER, P.; GREVELDING, C. G. & KUNZ, W. Identification of ras, map kinases, and a gap protein in *Schistosoma mansoni* by immunoblotting and their putative involvement in male-female interaction. *Parasitology*, 115(6): 629-634, 1997b.

SERRA, E.; ZEMZOUMI, K. & DISSOUS, C. Deletion analysis of the *Schistosoma mansoni* 28-KDa glutathione S-transferase gene promoter in mammalian cells-importance of a proximal activator-protein-1 site. *European Journal of Biochemistry*, 248: 113-119, 1997.

SERRA, E. et al. Expression of NF-Y nuclear factor in *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 113(5): 457-464, 1996a.

SERRA, E. et al. Functional analysis of the *Schistosoma mansoni* 28 KDa glutathione S-transferase gene promoter: involvement of SMNF-Y transcription factor in multimeric complexes. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 83: 69-80, 1996b.

SHORT, R. B. & MENZEL, M. Y. Somatic chromosomes of *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology*, 65(3): 471-473, 1979.

SIMPSON, A. J. Schistosome surface antigens: developmental expression and immunlogical function. *Parasitology Today*, 6: 40-45, 1990.

SIMPSON, A. J.; SHER, A. & MCCUTCHAN, T. F. The genome of *Schistosoma mansoni*: isolation of DNA, its size, bases and repetitive sequences. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 6: 125-137, 1982.

SIMPSON, A. J. et al. The arrangement of ribosomal RNA genes in *Schistosoma mansoni*. identification of polymorphic structural variants. *European Journal of Biochemistry*, 139: 41-45, 1984a.

SIMPSON, A. J. et al. The modulation of expression of polypeptide surface antigens on developing schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *Journal of Immunology*, 133: 2.725-2.730, 1984b.

SKELLY, P. J.; DA'DARA, A. & HARN, D. A. Suppression of cathepsin B expression in *Schistosoma mansoni* by RNA interference. *International Journal for Parasitology*, 33: 363-369, 2003.

SKELLY, P. J.; STEIN, L. D. & SHOEMAKER, C. B. Expression of *Schistosoma mansoni* genes involved in anaerobic and oxidative glucose metabolism during the cercaria to adult transformation. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 60: 93-104, 1993.

SMITH, A. L.; HUGGINS, M. C. & HAVERCROFT, J. C. *Schistosoma mansoni*: adult males and females differentially express antigens encoded by repetitive genomic DNA. *Parasitology*, 105(1): 63-69, 1992.

SPOTILA, L. D.; REKOSH, D. M. & LOVERDE, P. T. Polymorphic repeated DNA element in the genome of *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 48: 117-120, 1991.

SPOTILA, L. D. et al. A retroposon-like short repetitive DNA element in the genome of the human blood fluke, *Schistosoma mansoni*. *Chromosoma*, 97: 421-428, 1989.

STITZIEL, N. O. et al. TopoSNP: a topographic database of non-synonymous single nucleotide polymorphisms with and without known disease association. *Nucleic Acids Research*, 32: D520-D522, 2004.

TANAKA, M. et al. Yeast artificial chromosome (YAC)-based genome mapping of *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 69: 41-51, 1995.

TAUTZ, D. & RENZ, M. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Research*, 12: 4.127-4.138, 1984.

TEICHMANN, S. A.; MURZIN, A. G. & CHOTHIA, C. Determination of protein function, evolution and interactions by structural genomics. *Current Opinion in Structural Biology*, 11: 354-363, 2001.

TUCKER, C. L.; GERA, J. F. & UETZ, P. Towards an understanding of complex protein networks. *Trends in Cell Biology*, 11: 102-106, 2001.

VALADÃO, A. F. et al. Y-box binding protein from *Schistosoma mansoni*: interaction with DNA and RNA. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 125: 47-57, 2002.

VAN BALKOM, B. W. et al. Mass spectrometric analysis of the *Schistosoma mansoni* tegumental sub-proteome. *Journal of Proteome Research*, 4: 958-966, 2005.

VAN KEULEN, H. et al. Organization of the ribosomal RNA genes in *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 15: 215-230, 1985.

VAN KEULEN, H. et al. Characterization of a 54-nucleotide gap region in the 28S RRNA gene of *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 45: 205-214, 1991.

VAZQUEZ-TELLO, A. et al. Efficient trans-cleavage by the *Schistosoma mansoni* SMalpha1 hammerhead ribozyme in the extreme thermophile thermus thermophilus. *Nucleic Acids Research*, 30: 1.606-1.612, 2002.

VENTER, J. C.; SMITH, H. O. & HOOD, L. A new strategy for genome sequencing. *Nature*, 381: 364-366, 1996.

VERJOVSKI-ALMEIDA, S. et al. Transcriptome analysis of the acoelomate human parasite *Schistosoma mansoni*. *Nature Genetics*, 35: 148-157, 2003.

VERJOVSKI-ALMEIDA, S. et al. Schistosome transcriptome: insights and perspectives for functional genomics. *Trends in Parasitology*, 20: 304-308, 2004.

WALKER, T. K.; SIMPSON, A. J. & ROLLINSON, D. Differentiation of *Schistosoma mansoni* from S. Rodhaini using cloned DNA probes. *Parasitology*, 98(1): 75-80, 1989.

WANG, X. et al. Single nucleotide polymorphism in transcriptional regulatory regions and expression of environmentally responsive genes. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 207: 84-90, 2005.

WEBER, J. L. & MAY, P. E. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *American Journal of Human Genetics*, 44: 388-396, 1989.

WEISS, K. M. In search of human variation. *Genome Research*, 8: 691-697, 1998.

WERKHAUSER, R. P. et al. Mapping of the N terminus of the *Schistosoma mansoni* tegumental antigen Sm15 to its predicted precursor protein. *International Journal for Parasitology*, 30: 859-861, 2000.

WIEST, P. M.; KUNZ, S. S. & MILLER, K. R. Activation of protein kinase C by phorbol esters disrupts the tegument of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 109(4): 461-468, 1994.

WIEST, P. M. et al. Developmental expression of protein kinase C activity in *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 46: 358-365, 1992a.

WIEST, P. M. et al. *Schistosoma mansoni*: characterization of phosphoinositide response. *Experimental Parasitology*, 74: 38-45, 1992b.

WILSON, R. A. et al. From genomes to vaccines via the proteome. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99: 45-50, 2004.

WIPPERSTEG, V. et al. Characterisation of the cysteine protease ER60 in transgenic *Schistosoma mansoni* larvae. *International Journal for Parasitology*, 32: 1.219-1.224, 2002a.

WIPPERSTEG, V. et al. HSP70-controlled GFP expression in transiently transformed schistosomes. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 120: 141-150, 2002b.

WOLFE, S. A. et al. Analysis of zinc fingers optimized via phage display: evaluating the utility of a recognition code. *Journal of Molecular Biology*, 285: 1.917-1.934, 1999.

WONG, A. H. et al. Identification of candidate genes for psychosis in rat models, and possible association between schizophrenia and the 14-3-3eta gene. *Molecular Psychiatry*, 8: 156-166, 2003.

ZAMORE, P. D. et al. RNAi: double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of MRNA at 21 to 23 nucleotide intervals. *Cell*, 101: 25-33, 2000.

ZEMZOUMI, K. et al. *Schistosoma mansoni*: interaction of nuclear extracts with the CCAAT-binding site revealed by the gel shift assay. *Experimental Parasitology*, 80: 149-154, 1995.

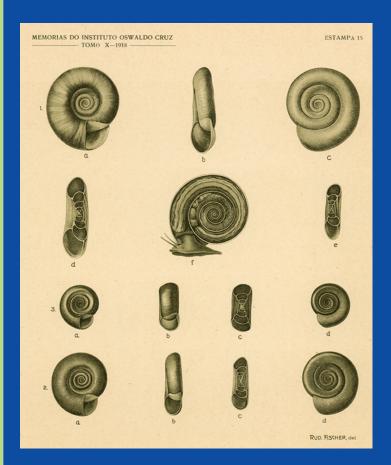
ZEMZOUMI, K. et al. Cloning of *Schistosoma mansoni* transcription factor NF-YA subunit: phylogenic conservation of the HAP-2 homology domain. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 77: 161-172, 1996.

ZWEIGER, G. & SCOTT, R. W. From expressed sequence tags to ‘Epigenomics’: an understanding of disease processes. *Current Opinion in Biotechnology*, 8: 684-687, 1997.

PARTE II

Hospedeiros Intermediários

8 Histórico do Gênero *Biomphalaria*, Morfologia e Sistemática Morfológica

W. Lobato Paraense

Caramujos de água doce do gênero Planorbis, observados no Brasil (Lutz, 1918).

Os moluscos transmissores de *Schistosoma mansoni* pertencem à família Planorbidae, que, juntamente com as famílias Ellobiidae, Acroloxidae, Lymnaeidae, Physidae e Ancylidae, constituem a ordem Basommatophora. A família Planorbidae compreende duas subfamílias – Planorbinae e Bulininae.

A subfamília Bulininae compreende o gênero *Bulinus*, com as espécies transmissoras de *Schistosoma haematobium*; ocorre na África, nas ilhas do oceano Índico, na Península Ibérica, nas ilhas do Mediterrâneo e no sudoeste da Ásia. No sul e sudeste da Ásia, sudeste da Arábia e ilha Socotra é representada pelo gênero *Indoplanorbis*, com uma única espécie, *I. exustus*, hospedeiro intermediário de um *Schistosoma* parasito de ungulados domésticos da Ásia.

Entre os membros da subfamília Planorbinae, aqui interessa o gênero *Biomphalaria*, que abriga as três espécies transmissoras de *S. mansoni* no Brasil: *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea*.

HISTÓRICO DO GÊNERO *Biomphalaria*

A partir de 1934 a denominação *Australorbis glabratus* (do latim *australis* = do sul; *orbis* = disco, objeto enrolado; *glabratus* = liso, glabro), proposta por Pilsbry (1934), passou a ser adotada pela maioria dos autores. No entanto, outros nomes genéricos eram aplicados a espécies que atualmente formam ao lado de *glabrata* no gênero *Biomphalaria*, como *Taphius* (Adams & Adams, 1858), *Platytaphius* (Pilsbry, 1924) e *Tropicorbis* (Brown & Pilsbry, 1914).

Wright (1959), tendo por base a observação de Hubendick (1955) de que os moluscos hospedeiros intermediários de *S. mansoni* na África e na América do Sul eram congenéricos, argumentou que

> a seleção do nome correto para este gênero de planorbídeos não pode ser decidida pela simples aplicação da regra de prioridade, porque há um conflito de opinião a respeito do nome disponível mais antigo; além disso, a situação é complicada pelo fato de que os nomes que competem pela precedência sob a regra de prioridade são todos inteiramente desconhecidos pelo pessoal médico de campo e pelos parasitologistas frequentemente ocupados em estudos sobre esses moluscos. (Wright, 1959: 906-907)

Na seqüência do texto, informa que um grupo de especialistas, constituído por ele próprio, Frederico Simões Barbosa (do Brasil), Bengt Hubendick (da Suécia) e Emile Abdel Malek (dos Estados Unidos), dirigira-se à Comissão Internacional de Nomenclatura Zoológica (Cinz) pedindo "uma decisão que estabilizasse a nomenclatura deste grupo de máxima importância econômica". Finalizando, recomenda que até a decisão da Cinz sejam usados os nomes genéricos *Biomphalaria* para os vetores africanos de *S. mansoni* e *Australorbis* ou *Tropicorbis* para os sul-americanos. A proposição de Barbosa et al. foi publicada em 1961 e a decisão da Comissão de Nomenclatura, a favor de *Biomphalaria*, em 1965.

O nome *Biomphalaria* (do latim *bis* = duas vezes; do grego *omphalos* = umbigo, em referência ao aprofundamento do giro central nos dois lados da concha) foi proposto como gênero novo por Preston (1910) para a nova espécie *B. smithi* do lago africano Albert Edward, em uma publicação sobre 28 espécies, todas novas, de moluscos daquele lago e de duas colônias africanas. Trata-se de uma denominação pouco expressiva, porquanto inúmeras categorias de moluscos de concha discoidal apresentam dois 'umbigos'.

Nem todos os malacologistas profissionais aceitaram sem reservas a decisão da Cinz. Parodiz (1969), por exemplo, continua a adotar o nome *Taphius*, para o gênero, e assim se manifesta a respeito de sua decisão:

> Esta decisão açodada foi não apenas inteiramente arbitrária, contra a lei da prioridade, como também desconsiderou as recomendações da própria Comissão para que sejam conservados os nomes com mais de 50 anos de uso geral. *Taphius* tinha sido usado por 110 anos e foi introduzido 55 anos antes de *Biomphalaria*. Além disso, os autores citados pela Comissão em apoio à decisão não foram todos coerentes: no ano anterior o próprio Hubendick e Harry (The freshwater pulmonate mollusca of Puerto Rico. *Meddel. f. Göteborgs Mus. Zool. Avdelning*. No. 136 (B), 9 (5): 1-77) tinham declarado à pág. 42 que o gênero *Taphius* é atualmente reconhecido como o único na subfamília [Taphiinae]. Quanto à alegada precedência de *Planorbina* Haldeman, 1842, o status desse nome tinha sido esclarecido por Pilsbry (1934) e F. C. Baker (1945), e a seleção de Dall em 1905 de *Planorbis olivaceus* como tipo era incorreta, uma vez que Haldeman se referira a uma espécie européia, *Planorbis spirorbis* Linnaeus. Se o desrespeito ao Código Internacional a favor, ou pela conveniência, de qualquer grupo de profissionais torna-se prática aceita, os taxonomistas enfrentarão o dilema de ter de optar entre a autoridade prescrita no código e decisões arbitrárias fora das regras. (Parodiz, 1969: 164)

MORFOLOGIA DE *Biomphalaria*

As características aqui consideradas são aquelas relacionadas à sistemática morfológica e referem-se particularmente aos planorbídeos do gênero *Biomphalaria*. A descrição original de Preston é a seguinte:

> Biomphalaria, gen. n.
>
> Shell subdiscoidal, planulate, with concave spire, last whorl very large; umbilicus open, but shallow; aperture gaping; labrum greatly receding below.
>
> Type of genus, *B. smithi*, Preston.
>
> A curious form belonging to the Limnaeidae and which, judging from the shell alone, should be placed near *Choanomphalus* from Lake Baikal. (Preston, 1910: 535)

As ilustrações que acompanham a descrição de Preston e a monografia de Pilsbry & Bequaert (1927) estão reproduzidas na Figura 1.

Figura 1 – *Biomphalaria smithi* – A: segundo Preston (1910); B: segundo Pilsbry & Bequaert (1927)

A aparência exterior de uma *Biomphalaria* (no caso, a *B. glabrata*) está representada na Figura 2.

A descrição a seguir aplica-se às três espécies transmissoras de *S. mansoni* na região neotropical – *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea* – e restringe-se aos sistemas orgânicos portadores de estruturas de importância diagnóstica. Descrições mais detalhadas das três espécies se encontram em outras publicações (Paraense & Deslandes, 1955; Paraense, 1970, 1972).

A concha adulta (Figura 2) tem a forma de disco bicôncavo planispiral não operculado, com orientação sinistrógira. A cor natural é castanha, podendo variar sob influência das condições ambientais, como referido adiante.

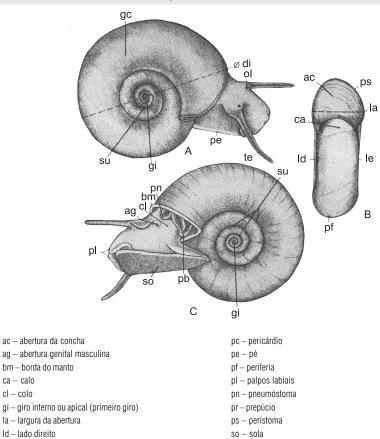
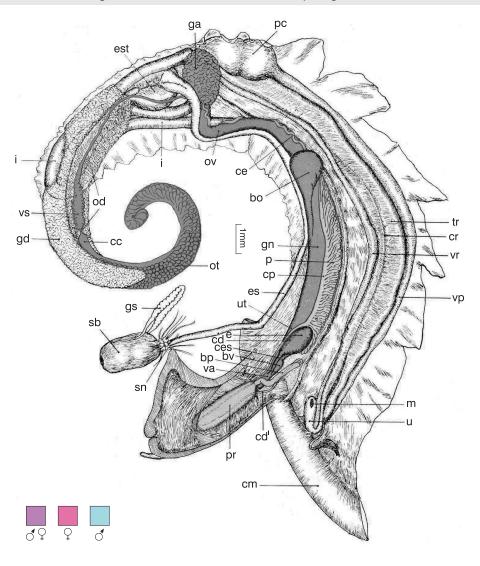



Figura 2 – Características externas de *Biomphalaria*, utilizadas na taxonomia

ac – abertura da concha
ag – abertura genital masculina
bm – borda do manto
ca – calo
cl – colo
gi – giro interno ou apical (primeiro giro)
la – largura da abertura
ld – lado direito
le – lado esquerdo
ol – olho
pb – pseudobrânquia
pc – pericárdio
pe – pé
pf – periferia
pl – palpos labiais
pn – pneumóstoma
pr – prepúcio
ps – perístoma
so – sola
su – sutura
te – tentáculo

Como todos os pulmonados, os planorbídeos são hermafroditas. Seu sistema genital compreende um órgão produtor de células germinais masculinas e femininas – o ovotéstis, que ocupa a extremidade caudal do corpo e, portanto, os giros centrais da concha, ao qual se segue um conduto para eliminação daquelas células (ovispermiduto ou canal hermafrodita), que se bifurca em um ramo masculino e outro feminino. O sistema genital fornece as características morfológicas mais importantes para a identificação dos planorbídeos, representadas na Figura 3.

O ovotéstis é composto por vesículas piriformes simples, bifurcadas, menos freqüentemente tri ou quadrifurcadas, em cujas paredes desenvolvem-se as células reprodutoras masculinas e femininas. Estas são lançadas na luz de um canal coletor que percorre ventralmente a massa de vesículas, expandindo-se gradualmente na direção cefálica. Ao atingir esse nível, o canal coletor estreita-se bruscamente, passando a constituir o canal ovispermático ou ovispermiduto. Logo após deixar o ovotéstis o ovispermiduto emite numerosos divertículos, que constituem as vesículas seminais, onde se acumulam e amadurecem os espermatozóides. Em seguida, volta a estreitar-se e percorre um longo trajeto até desembocar em uma pequena bolsa – a encruzilhada genital, ou *carrefour* –, que recebe também a secreção da glândula do albume, destinada a envolver o ovo. A partir do *carrefour* o sistema genital divide-se em dois ramos – feminino e masculino.

Figura 3 – *Biomphalaria glabrata*: dissecção parcial pelo lado direito, indicando estruturas de importância taxonômica. A encruzilhada genital, ou *carrefour*, está encoberta pela glândula do albume

bo – bolsa do oviduto
bp – bainha do pênis
bv – bolsa vaginal
cc – canal coletor do ovoteste
cd, cd' – canal deferente
ce – canal espermático
ces – canal da espermateca
cm – colar do manto
cp – canal prostático
cr – crista renal
e – espermateca
es – esôfago
est – estômago
ga – glândula do albume
gd – glândula digestiva (hepatopâncreas)
gn – glândula nidamental
i – intestino
m – meato do ureter
od – ovispermiduto
ot – ovoteste
p – próstata
pc – pericárdio
pr – prepúcio
sb – saco bucal
sn – sistema nervoso central
tr – tubo renal
u – ureter
ut – útero
va – vagina
vp – veia pulmonar
vr – veia renal
vs – vesícula seminal

O ramo feminino compreende a glândula do albume, o oviduto, a glândula nidamental, o útero, a vagina e a espermateca.

Chegando ao *carrefour*, o ovo é envolvido pela secreção nutritiva da glândula do albume, segue pelo oviduto, pela bolsa do oviduto e pela glândula nidamental, formando grupos encapsulados pelas secreções destes condutos e denominados 'cápsulas ovíferas'. Após um percurso relativamente longo, a glândula nidamental diminui gradualmente de calibre continuando-se com o útero, que por sua vez também se estreita para continuar-se com a vagina. À direita da vagina está a espermateca, cujo corpo sacular continua-se com um canal estreito que se abre na luz da vagina.

O ramo masculino compreende o espermiduto ou canal espermático, a próstata, o canal deferente e o complexo peniano. O espermiduto estende-se do *carrefour* até a bolsa do oviduto, por cuja superfície passa alojado em uma ligeira depressão. Prossegue ao longo e à direita da glândula nidamental, emitindo uma série de evaginações – os divertículos prostáticos –, algumas indivisas, na maioria mais ou menos ramificadas, cujo conjunto constitui a próstata, aderida à glândula nidamental. A fileira de divertículos prostáticos termina ao nível da espermateca, cujo corpo é circundado pelo divertículo mais anterior, na maioria dos casos. A partir daí o espermiduto desliga-se dos órgãos vizinhos, passando a constituir o canal deferente, que segue em direção à base do tentáculo esquerdo, onde se mescla com fibras do tecido local. Daí, inflete-se bruscamente na direção caudal, flutuando livre na cavidade do corpo para continuar-se no complexo peniano. Este é formado pelo pênis – prolongamento do canal deferente –, envolvido por uma bainha – bainha do pênis ou saco vérgico. Retoma a direção cefálica, continuando-se no prepúcio, formação tubular predominantemente muscular que se abre logo atrás do tentáculo esquerdo e pouco adiante da abertura da vagina.

O teto da cavidade respiratória ou cavidade pulmonar, abundantemente vascularizado, é percorrido longitudinalmente pelo tubo renal, ladeado à direita pela veia pulmonar e à esquerda pela veia renal. Demais caracteres estão assinalados na Figura 3.

O sistema digestivo, também representado na Figura 3, compreende o saco bucal, com as glândulas salivares, o esôfago, o estômago, com a glândula digestiva, e o intestino. A massa bucal tem o aspecto de um bulbo, em cujo interior está a rádula, que como o resto do sistema digestivo não apresenta caracteres de valor diagnóstico para diferençar as três espécies.

Biomphalaria glabrata

B. glabrata é o mais importante transmissor de *S. mansoni* na região neotropical, não só pelo alto grau de suscetibilidade de suas populações ao parasito como pela extensão de sua distribuição geográfica. Foi descrita por Say (1818) como *Planorbis glabratus*, com base em uma concha doada à Academia de Ciências Naturais da Filadélfia pelo naturalista L'Hermenier, que garantia pertencer a uma espécie existente nos arredores de Charleston, Carolina do Sul, onde ele vivera por alguns anos. No entanto, pesquisas ulteriores não confirmaram a ocorrência, naquela região, de exemplares correspondentes à descrição de Say. Sabe-se hoje que os grandes planorbídeos lá existentes pertencem ao gênero *Helisoma*. Pilsbry (1934) investigou o assunto detalhadamente. Em correspondência com Mr. E. B. Chamberlain, diretor do Museu de Charleston, foi informado de que L'Herminier (não L'Hermenier, como escrito por Say) chegou a Charleston por volta de 1814, vindo de Guadeloupe e trazendo um grande lote de exemplares coletados durante vinte anos, que ofereceu à Literary and Philosophical Society of South Carolina.

L'Herminier foi então nomeado curador do museu da Sociedade, exercendo esse cargo até 1819, quando regressou a Guadeloupe. Baseado nessas informações e na comparação das conchas de dois espécimes de Guadeloupe pertencentes à Academy of Natural Sciences of Philadelphia, Pilsbry (1934) concluiu que a descrição, por Say, do exemplar doado por L'Herminier ajustava-se bem a *Planorbis guadaloupensis* (Sowerby, 1822), das Antilhas, não tendo dúvida sobre a unicidade dos dois táxons e a conseqüente prioridade de *Planorbis glabratus*. Nesse estudo, Pilsbry adotou o nome genérico *Australorbis*, para a espécie em questão.

Antes de Pilsbry, *Planorbis guadaloupensis* havia sido referido como espécie-tipo dos gêneros *Menetus* (Fischer, 1887) e *Planorbina* (Dall, 1905; e outros autores).

Enquanto Say dava a conhecer a existência de *Planorbis glabratus*, Spix e Martius coletavam no estado da Bahia, mais precisamente em Ilhéus e Almada, entre 13 de dezembro de 1818 e 6 de janeiro de 1819, conchas de um planorbídeo atualmente considerado idêntico à espécie descrita por Say. Spix, responsável pela parte zoológica da expedição, etiquetou-as como *Planorbis olivaceus*, *P. ferrugineus*, *P. nigricans*, *P. albescens* e *P. viridis*, evidentemente de acordo com a cor da concha. Como o estudo dos moluscos conquíferos era baseado quase exclusivamente nos caracteres da concha, durante longas expedições era conveniente coletar conchas vazias, cuja cor pode variar dependendo do tempo e do ambiente. Em ambientes naturais a concha de *B. glabrata* viva é quase sempre olivácea, permanecendo assim durante tempo variável depois da morte e decomposição do animal (*P. olivaceus*). Em regiões de solo laterítico a concha pode tomar uma cor ferruginosa (*P. ferrugineus*), que fica mais escura com a passagem do tempo (*P. nigricans*). Se a camada calcária é exposta pela erosão do perióstraco, a concha aparece esbranquiçada (*P. albescens*), podendo ficar esverdeada pela ação de algas verdes (*P. viridis*).

Spix faleceu em 1827, deixando a meio caminho o estudo de seus espécimes, completado por Wagner (1827), que introduziu alterações substanciais, mantendo o nome *olivaceus* para o exemplar maior e considerando *ferrugineus* um sinônimo de concha menor. Além disso, introduziu um sexto exemplar, não selecionado por Spix, denominando-o *P. lugubris* e considerando-o sinônimo sênior das três espécies restantes de Spix. Depois de descrever esse *P. lugubris*, declara que ele é encontrado junto com *P. olivaceus* e remete o leitor a uma figura de número 1.118 e à sua descrição original (de *P. lugubris*) na edição de 1786 do *Conchylien-Cabinet de Martini-Chemnitz* (rejeitada pela Cinz). Mas essa figura 1.118 refere-se a um planorbídeo das Índias Ocidentais.

Outros sinônimos de *B. glabrata* no Brasil são: *Planorbis lundii* (Beck, 1837), *P. cummingianus* (Dunker, 1848), *P. becki* e *P. bahiensis* (Dunker, 1850) (em parte, espécimes da Bahia) e *P. dentifer* (Moricand, 1853).

A concha adulta de *B. glabrata* (Figuras 2, 4A, 6) tem de 20 mm a 30 mm de diâmetro máximo na grande maioria das populações, chegando excepcionalmente a cerca de 40 mm em ambientes mais favoráveis, como observado em Mascarenhas e Itarana, no estado do Espírito Santo. Largura entre cerca de 5 mm a 8 mm, com cerca de seis giros arredondados, crescendo lentamente em diâmetro, bem visíveis em ambos os lados, o central mais exposto à esquerda. Lado direito, largamente côncavo, com o giro central profundo, e o esquerdo formando concavidade rasa. Sutura encontra-se bem marcada em ambos os lados. Periferia arredondada, tendendo para a direita. Abertura oval ou arredondada. Em algumas populações, a concha é mais larga que habitualmente, chegando a apresentar apreciável grau de carenação bilateral, mais acentuada à esquerda (Paraense, 1961).

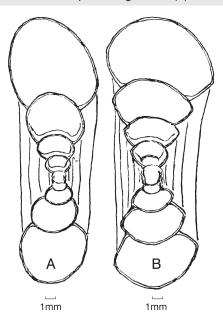
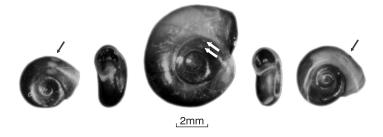
Figura 4 – Corte diametral das conchas de *Biomphalaria glabrata* (A) e *B. tenagophila* (B)

As conchas de indivíduos juvenis (2 mm a 9 mm de diâmetro) que vivem em ambientes sujeitos a dessecação estacional apresentam muitas vezes um ou mais grupos de lamelas no interior da abertura (Paraense, 1957) (Figura 5), a qual freqüentemente se desvia para a esquerda, assemelhando essas conchas às de *Biomphalaria schrammi* (Paraense, Fauran & Courmes, 1964). Cada grupo consta geralmente de seis lamelas, às vezes menos, que são total ou parcialmente reabsorvidas durante o crescimento do animal, podendo, na concha adulta, permanecer no local original. Quando mantidos em laboratório, esses espécimes lamelados tendem a sair da água, aderindo às paredes do aquário.

Figura 5 – *Biomphalaria glabrata*: conchas de espécimes jovens com lamelas

Uma característica decisiva para a identificação de *B. glabrata* entre as espécies congêneres é a presença, nos espécimes jovens (até cerca de 10 mm de diâmetro), de uma linha pigmentada ao longo da membrana que cobre a superfície ventral do tubo renal (Figura 7A). À medida que cresce o animal, ergue-se uma prega longitudinal sobre essa linha, formando a denominada crista renal (Figuras 7B, 7C). Uma crista renal bem desenvolvida também ocorre em espécies do gênero *Helisoma*, porém desprovida de pigmentação melânica (Paraense, 1976).

A genitália está representada na Figura 6. Ovotéstis geralmente com mais de 200 divertículos, a maioria bi ou trifurcados; vesículas seminais formando denso conjunto de divertículos moderadamente alongados; parede ventral da vagina expandida em bolsa bem delimitada; espermateca ovóide, claviforme ou mesmo globosa, dependendo do estado de repleção, com ducto geralmente tão longo quanto o corpo; próstata com 15 a 30 divertículos longos, delgados, predominantemente arborescentes, o anterior inserido entre a espermateca e o útero; e bainha do pênis de um pouco mais curta a um pouco mais longa que o prepúcio, aproximadamente do mesmo diâmetro que a porção mais larga do canal deferente.

Figura 6 – Concha e sistema genital de *Biomphalaria glabrata*

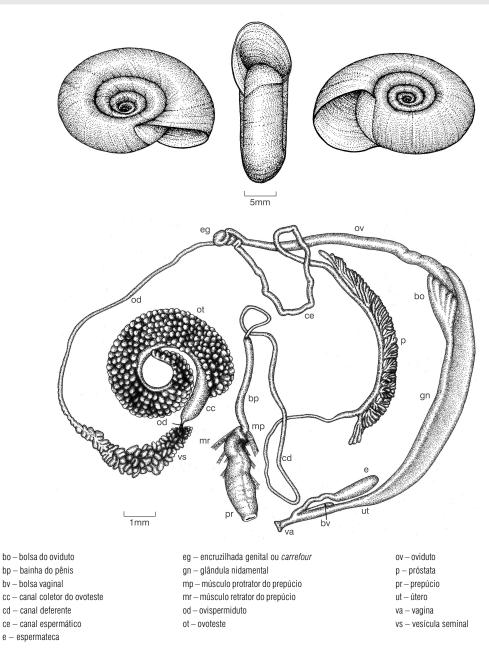
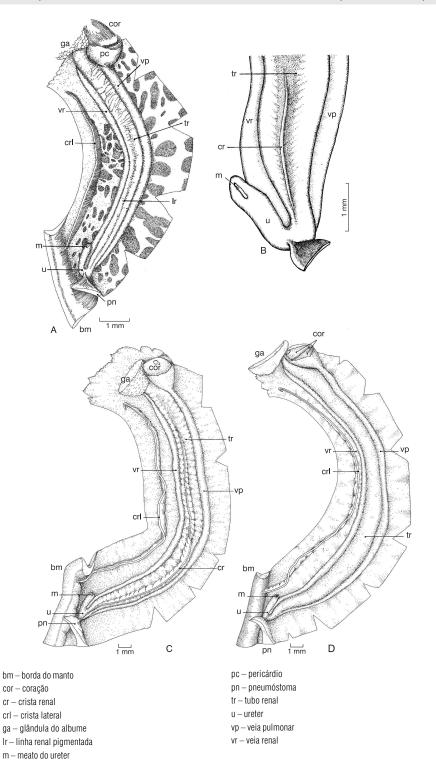



Figura 7 – Teto da cavidade pulmonar de *Biomphalaria*. A: linha pigmentada ao longo da superfície ventral do tubo renal em espécime jovem de *B. glabrata*; B: estádio inicial da crista renal sobre a linha pigmentada; C: crista renal em espécime adulto; D: ausência de crista renal em outras espécies de *Biomphalaria*

Biomphalaria tenagophila

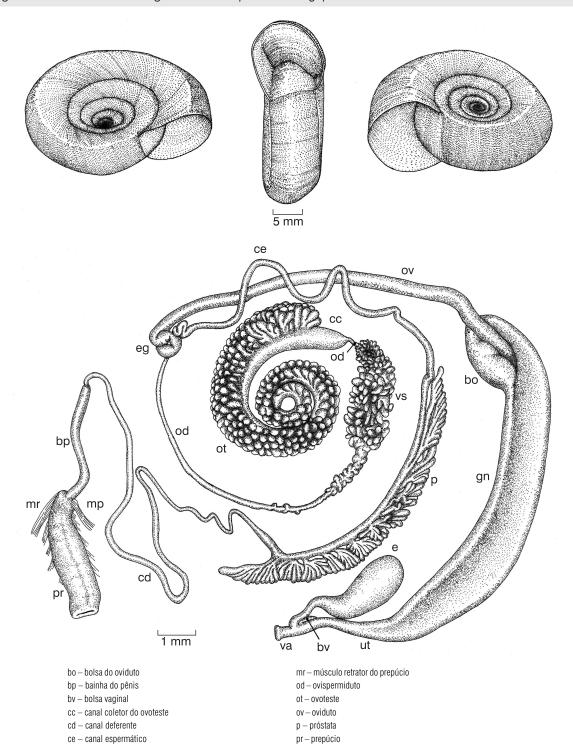
B. tenagophila (do grego *tenagos* = pântano; *philos* = amigo) foi descrita por Orbigny (1835) com base em exemplares coletados em Corrientes (Argentina) e em Santa Cruz e Chiquitos (Bolívia). Orbigny (1835, 1837) relata tê-la encontrado no Rio de Janeiro, "nos pântanos de São Cristóvão, onde é bastante rara", denominando-a *Planorbis ferrugineus* Spix, que como visto anteriormente é sinônimo de *B. glabrata*. Em São Cristóvão foram encontrados espécimes que concordam com a descrição de Orbigny, mas são indistinguíveis de *B. tenagophila* pela anatomia e por provas de cruzamento (Paraense, 1961).

Em 1856, Dunker descreveu a espécie *Planorbis bahiensis*, baseado em espécimes coletados na Bahia e no Rio de Janeiro. Tratava-se realmente de duas espécies: *B. glabrata* da Bahia e *B. tenagophila* do Rio de Janeiro (Paraense, 1961; Dunker, 1856).

Lutz (1918) admitia que o planorbídeo encontrado habitualmente no Rio de Janeiro era *P. nigricans* de Spix, da Bahia. Sua opinião era reforçada pelo fato de ter recebido espécimes, por ele considerados típicos, da cidade de Caravelas, na Bahia. Por alguns anos, vários autores – eu inclusive – adotaram a nomenclatura de Lutz, tratando como *nigricans* a *tenagophila* do Rio de Janeiro para o sul. Somente em 1960 notei que os exemplares de Caravelas eram realmente *B. tenagophila*. Em 1994 coletei-a em Ibirapuã e Itamaraju, esta última localidade situada cerca de 100 km ao norte de Caravelas, sendo o atual limite norte de sua distribuição.

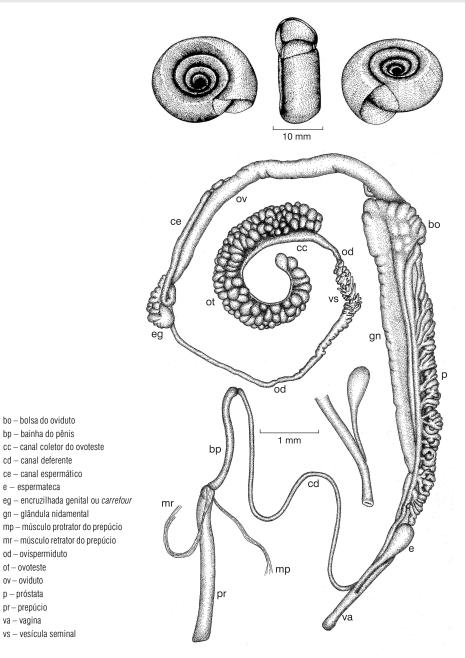
A concha adulta de *B. tenagophila* (Figuras 4B, 8) alcança cerca de 35 mm de diâmetro e 11 mm de largura na abertura; mas, na grande maioria das populações, o diâmetro máximo poucas vezes ultrapassa 25 mm. Suas outras características são: sete a oito giros carenados, mais acentuadamente no lado esquerdo, crescendo lentamente em diâmetro e bem visíveis nos dois lados, o central mais exposto à esquerda; lado direito variavelmente deprimido, desde muito côncavo até quase plano, com o giro central aprofundado; lado esquerdo geralmente mais côncavo que o direito; sutura bem marcada em ambos os lados; periferia arredondada, tendendo para a direita; abertura deltóide, transversal nas conchas mais largas e tendendo a cordiforme nas mais estreitas; em indivíduos ou populações de concha mais estreita há uma tendência à atenuação das carenas e ao achatamento do lado direito; lados da concha escavados, mais profundamente à esquerda. Em comparação com *B. glabrata* apresenta maior largura, uma angulação mais ou menos acentuada ao longo da parede lateral dos giros, principalmente no lado esquerdo, e a abertura mais larga que alta, de contorno deltóide. Nos variantes de concha mais estreita a angulação pode ser menos nítida ou faltar completamente. Nestes casos confunde-se com *B. glabrata*, só sendo possível a distinção pelo exame anatômico.

A anatomia de *B. tenagophila* (Figura 8) é quase idêntica à de *B. glabrata*, diferindo apenas pela ausência da crista renal (Figura 7D) ou da linha pigmentada que a precede nos espécimes jovens. Biologicamente, as duas espécies são separadas por absoluto isolamento reprodutivo.

Figura 8 – Concha e sistema genital de *Biomphalaria tenagophila*

bo – bolsa do oviduto
bp – bainha do pênis
bv – bolsa vaginal
cc – canal coletor do ovoteste
cd – canal deferente
ce – canal espermático
e – espermateca
eg – encruzilhada genital ou *carrefour*
gn – glândula nidamental
mp – músculo protrator do prepúcio
mr – músculo retrator do prepúcio
od – ovispermiduto
ot – ovoteste
ov – oviduto
p – próstata
pr – prepúcio
ut – útero
va – vagina
vs – vesícula seminal

Biomphalaria occidentalis

Descrita por Paraense (1981), é muito semelhante a *B. tenagophila*, dela se distinguindo pela ausência de bolsa vaginal, pelo aspecto longilíneo do complexo peniano (Figura 9) e pela eletroforese da hemolinfa em gel de agarose (Bailey, Michelson & Paraense, 1986). As duas espécies são separadas por absoluto isolamento reprodutivo. *B. occidentalis* está presente nos estados do Acre, Amazonas, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Paraná, no oeste de São Paulo e no Paraguai. Não tem sido encontrada naturalmente infectada por *S. mansoni* e não é suscetível à infecção experimental (Paraense & Corrêa, 1982).

Figura 9 – Concha e sistema genital de *Biomphalaria occidentalis*

Biomphalaria straminea

B. straminea (do latim *stramineus* = cor de palha), cujas conchas estão depositadas na coleção Cuming do Museu de História Natural em Londres, está etiquetada como procedente da América do Sul. Foi descrita por Dunker (1848), sem figura, como *Planorbis stramineus*. Uma descrição ulterior (Dunker, 1850), com figuras de um espécime, é insuficiente para um reconhecimento seguro. O autor diz que seu *P. stramineus* é muito semelhante à figura de *Planorbis montanus* Orbigny, do lago Titicaca, "mas de modo nenhum se ajusta à descrição original daquela espécie". Refere-se também a outro exemplar da coleção de Cuming, de Aconcágua, Chile, tendo dúvida quanto a considerá-la uma variedade de *P. stramineus* ou uma outra espécie. Quanto a *P. montanus*, Pilsbry (1924) e Hubendick (1955) mostraram que é uma forma de *P. andecolus* Orbigny, 1835, também do Lago Titicaca, anatomicamente muito diferente do que hoje se conhece como *B. straminea* (Paraense & Deslandes, 1957). Quanto ao espécime de Aconcágua, muito provavelmente é o planorbídeo daquela província chilena descrito por Biese (1951) como *Tropicorbis schmiererianus*. A semelhança entre as conchas dessas espécies nominais dificulta a solução do problema.

Martens (1859), estudando material venezuelano da região costeira do lago Maracaibo e dos arredores de Mérida, restringiu a localidade-tipo de *P. stramineus* para Lagunilla. Existe realmente uma localidade chamada Lagunillas (não Lagunilla) em ambas as regiões, e Martens não indicou claramente a posição de 'sua' Lagunilla. Sobre *P. stramineus* ele apenas diz que ocorre em Lagunilla, de "água cálida, pouco ondulosa, salina", no mesmo hábitat de *Ampullaria eximia* (Dunker, 1853). No final de sua descrição de *A. eximia*, Dunker (1853) declara que, "de acordo com informação do Sr. cônsul Gruner, de Bremen, a localidade deste caramujo é a província Coro, no lago Maracaibo". Na realidade, Coro é a capital do estado Falcón e está situada cerca de 250 km a nordeste do lago Maracaibo.

Em maio de 1974 coletei em Lagunillas, 30 km a oeste da cidade de Mérida, um planorbídeo descrito por Preston (1907) como *P. meridaensis*. Sua concha é semelhante à da atualmente chamada *B. straminea*, mas pela anatomia não se distingue de *B. prona* (Paraense, 1992), descrita pelo próprio Martens (1873), do lago Valencia, e cuja concha é notavelmente modificada fora do lago (Paraense et al., 1992).

Resumindo, quase com certeza a Lagunilla de Martens é a aldeia venezuelana no lago Maracaibo, cuja água salina, derivada do Mar do Caribe através do golfo de Venezuela, comunica sua salinidade à "Laguna von Lagunilla" por ele mencionada. A propósito, no nordeste do Brasil *B. straminea* foi encontrada vicejando em águas salinas, com 1-2 g NaCl/litro (Lucena, 1946).

Pode-se afirmar, entretanto, que Cuming nunca esteve na Venezuela. Sua coleta de conchas nas Américas restringiu-se à costa do Pacífico, da ilha de Chiloé, no Chile, à Conchagua, nas Honduras (Dance, 1986).

Martens (1873) refere-se a espécimes de *Planorbis stramineus* no Museu de Berlim: de Lagunilla, coletados por Engel; de Caracas, por Ernst; e do estado brasileiro do Ceará, por Zietz. Lutz (1928) identificou como *P. stramineus* um planorbídeo que encontrou perto de Maracay, assegurando que coincidia com a espécie assim considerada por Martens. Das localidades por este referidas, a única em que seguramente ocorre *B. straminea* (segundo a definição atual) é o Ceará. Como sua presença nas outras localidades não tem sido confirmada, o nome *straminea* é aplicado usualmente ao planorbídeo morfologicamente idêntico à forma que ocorre no Ceará.

O próximo registro de *B. straminea* é de Baker, que a coletou no lago Papari (estado do Rio Grande do Norte, Brasil) e no Ceará: "Há cerca de meia dúzia de formas de *Planorbis* muito semelhantes descritas da

América do Sul, não figuradas ou imperfeitamente figuradas, muito possivelmente redutíveis a uma ou duas espécies. *Planorbis stramineus* Dunker parece ser a primeira delas a ser descrita (Baker, 1913)".

Além disso, Baker registra a ocorrência de *B. peregrina* (Orbigny, 1835) na região costeira do Ceará, o que nunca foi confirmado: seu limite norte é 15º S (Paraense, 1950), ao passo que o limite sul do Ceará é 8º S. A dúvida de Baker também foi expressa por Lutz:

> No Estado de Pernambuco, que é um dos centros principais da schistomatose intestinal, não se conhece as grandes especies de *Planorbis*. De outro lado, existe uma especie, menor e muito espalhada, tanto nos rios como nas lagoas. Procurando identificar esta, lidei com sérias dificuldades. Parece-se um pouco com o *peregrinus* D'ORB., do qual F. BAKER cita um exemplar do Ceará, que talvez pertença a nossa especie; todavia o *peregrinus* legitimo, que obtive em Montivideo, é maior e difere pela forma do ultimo giro. BAKER da tambem o *stramineus* DUNKER como especie do Ceará; mas este difere pelo tamanho e tambem pela forma, se a figura de REEVE-SOWERBY for correta. Não quero contestar que a especie já fosse colecionada, mas não parece ter sido bem definida. Por isso me vejo obrigado a dar-lhe um nome; escolhi o de *centimetralis*, indicando o tamanho, que, neste caso, muito ajuda á identificação. (Lutz, 1918) [Na região semi-árida do nordeste brasileiro encontrei espécimes medindo 15 mm]

Foi antes mencionado que Lutz (1928) identificou como *P. stramineus* um planorbídeo por ele coletado perto de Maracay. Como ele tinha proposto a espécie *centimetralis* dez anos antes, distinguindo-a de *straminea*, fica em dúvida a verdadeira identidade desses espécimes venezuelanos. Tal confusão sobre *B. straminea* e muitas espécies de planorbídeos e outros moluscos deve-se ao fato de suas descrições terem sido baseadas exclusivamente em caracteres da concha.

Ainda no tocante à Venezuela, em dezembro de 1956 coletei *B. straminea* (alguns espécimes emitindo cercárias de *S. mansoni*) em San Joaquín, estado Carabobo, em um riacho de Hacienda Cura, onde membros de uma família estavam infectados pelo parasito.

A concha adulta de *B. straminea* (Figura 10) alcança cerca de 16 mm de diâmetro e 6 mm de largura na abertura. Possui cinco giros arredondados, freqüentemente um pouco subangulosos à esquerda, crescendo um pouco mais rapidamente em diâmetro que em *glabrata* e *tenagophila* e bem visíveis nos dois lados, o central mais exposto à esquerda. Lado direito variavelmente côncavo, tendendo muitas vezes a aplanar-se, com o giro central profundo. Lado esquerdo variavelmente côncavo, em geral mais largamente que o direito. Sutura bem marcada em ambos os lados, geralmente mais profunda à esquerda. Periferia arredondada, medial ou tendendo ligeiramente para a direita. Abertura ovóide ou arredondada.

A genitália está representada na Figura 10: ovotéstis geralmente com mais de 50 e menos de 150 divertículos, predominantemente simples ou bifurcados. Parede dorsal da vagina enrugada, devido à presença de uma série de ondulações transversais. Espermateca ovóide ou claviforme, com ducto, quando bem delimitado, quase sempre um pouco mais curto que o corpo. Próstata com cerca de cinco a 20 divertículos relativamente curtos, os mais ramificados tendendo a arborescentes, o anterior quase sempre inserido entre a espermateca e o útero. Bainha do pênis de um pouco mais curta a mais longa que o prepúcio e geralmente mais larga que o canal deferente. Três camadas musculares na parede do pênis (Figura 11), sendo a interna longitudinal, a média circular e a externa oblíqua, bem evidentes no terço médio do órgão (nas outras espécies de *Biomphalaria* há uma camada interna longitudinal e uma externa circular).

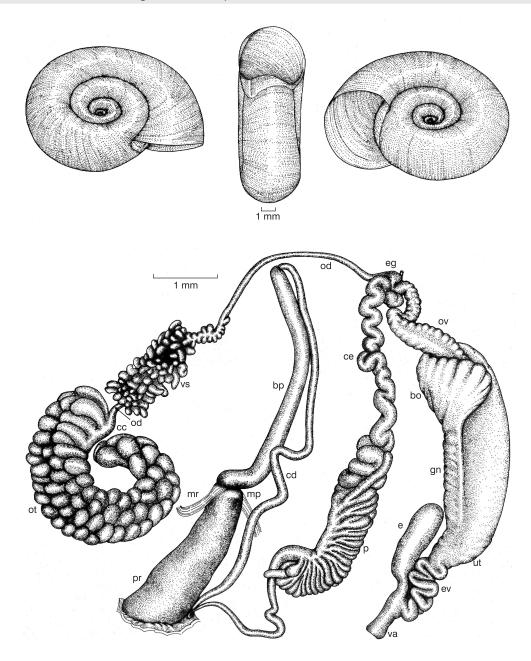
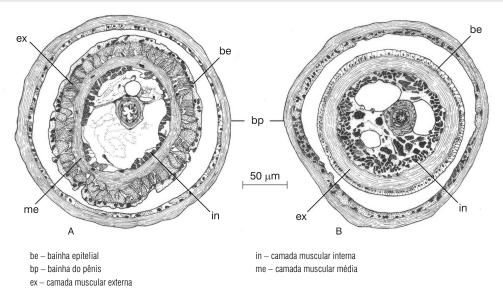
Figura 10 – Concha e sistema genital de *Biomphalaria straminea*

bo – bolsa do oviduto
bp – bainha do pênis
cc – canal coletor do ovoteste
cd – canal deferente
ce – canal espermático
e – espermateca
eg – encruzilhada genital ou *carrefour*
ev – enrugamento vaginal
gn – glândula nidamental
mp – músculo protrator do prepúcio
mr – músculo retrator do prepúcio
od – ovispermiduto
ot – ovoteste
ov – oviduto
p – próstata
pr – prepúcio
ut – útero
va – vagina
vs – vesícula seminal

Figura 11 – Cortes transversais dos complexos penianos de *Biomphalaria straminea* (A) e das outras espécies (B)

HOSPEDEIROS EXPERIMENTAIS

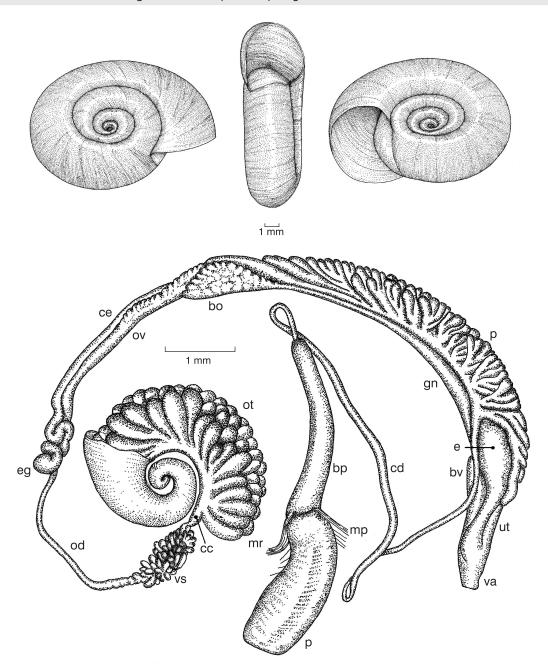
Biomphalaria peregrina

B. peregrina (do latim *peregrinus* = que viaja no estrangeiro, em referência à sua ampla distribuição geográfica) foi descrita por Orbigny (1835) com base em exemplares de Rio Negro, na Patagônia. Investigada por Paraense (1966b), está representada na Figura 12.

A concha adulta atinge cerca de 16 mm de diâmetro e 5 mm de largura na abertura, com cinco a seis giros arredondados, um pouco subangulosos à esquerda, crescendo lentamente em diâmetro e bem visíveis em ambos os lados, o central mais exposto à direita. Lado direito de aplanado a ligeiramente côncavo, com giro central pouco aprofundado. Lado esquerdo formando concavidade de profundidade variável. Sutura bem marcada em ambos os lados, geralmente mais profunda à esquerda. Periferia arredondada, tendendo um pouco para a direita. Abertura arredondada.

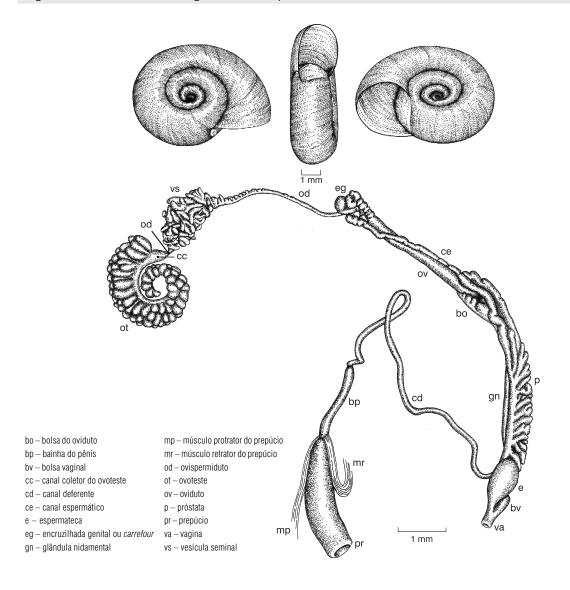
Superfície ventral do tubo renal lisa, sem crista. Ovotéstis geralmente com mais de 50 e menos de 150 divertículos, a maioria simples ou bifurcados. Divertículos da vesícula seminal predominantemente alongados. Parede ventral da vagina expandida em bolsa bem delimitada. Espermateca ovóide ou claviforme; ducto, quando bem delimitado, quase sempre um pouco mais curto que o corpo. Próstata contendo de oito a 22 divertículos longos, delgados, predominantemente arborescentes, o anterior quase sempre recobrindo e ocultando o ápice da espermateca. Bainha do pênis relativamente larga, porção média com diâmetro muito maior que o da porção mais larga do canal deferente; varia de um pouco mais curta a um pouco mais longa que o prepúcio (relação entre os comprimentos dos dois órgãos de 0,5 a 1,7).

Até agora não foi registrada infecção natural de *B. peregrina* por *S. mansoni*. Entretanto, duas populações – de Lapa, estado do Paraná, e de Chillogallo, Equador – mostraram-se suscetíveis ao parasito no laboratório (Paraense & Corrêa, 1973).

Figura 12 – Concha e sistema genital de *Biomphalaria peregrina*

bo – bolsa do oviduto
bp – bainha do pênis
bv – bolsa vaginal
cc – canal coletor do ovoteste
cd – canal deferente
ce – canal espermático
e – espermateca
eg – encruzilhada genital ou *carrefour*
gn – glândula nidamental
mp – músculo protrator do prepúcio
mr – músculo retrator do prepúcio
od – ovispermiduto
ot – ovoteste
ov – oviduto
p – próstata
ut – útero
va – vagina
vs – vesícula seminal

Biomphalaria amazonica

Descrita por Paraense (1966a, 1983), com ampla distribuição nos estados do Acre, Amazonas e Rondônia, foi recentemente encontrada na Bolívia (Pointier et al., 2002). A concha adulta de *Biomphalaria amazonica* atinge cerca de 8 mm de diâmetro e 2,5 mm de largura. Cinco giros arredondados nos dois lados (exceto na parede direita do giro corporal, que tende a ser achatado) e separados por sutura profunda. No lado direito o giro mais central é acentuadamente profundo e os seguintes ascendem gradualmente ao nível do penúltimo, delimitando uma cavidade afunilada. Giro externo nivelado ao anterior e defletido para a esquerda, às vezes acentuadamente, na região da abertura, em mais da metade dos espécimes bem desenvolvidos. Lado esquerdo larga e moderadamente escavado, mostrando a superfície dos giros internos mais nitidamente que o lado direito. Periferia arredondada. Abertura ovóide, às vezes arredondada, e um pouco oblíqua. Perístoma fino e contínuo.

Figura 13 – Concha e sistema genital de *Biomphalaria amazonica*

Superfície ventral do tubo renal lisa, sem crista. Ovotéstis com 30 – 50 divertículos, principalmente claviformes ou digitiformes (exemplificando, o ovotéstis de um espécime tinha 39 divertículos, sendo 32 simples, seis bifurcados e um trifurcado). Divertículos da vesícula seminal nodulares ou digitiformes. Parede ventral da vagina expandida em bolsa bem delimitada. Espermateca variando de claviforme a obovóide, conforme o grau de repleção. Próstata com cerca de oito a 12 divertículos com ramificações curtas, que se sobrepõem apenas ligeiramente. Bainha do pênis um pouco mais curta que o prepúcio.

Também *B. amazonica* não tem sido encontrada naturalmente infectada por *S. mansoni*, mas se mostrou suscetível em experimentos de laboratório (Corrêa & Paraense, 1971; Paraense & Corrêa, 1985).

PERSPECTIVAS

O movimento denominado 'Nova Sistemática' preconizava, há mais de cinqüenta anos, a adoção de métodos de outras disciplinas (genética, evolução, ecologia, paleontologia, biogeografia etc.), além da morfologia, no campo da taxonomia. Com o desenvolvimento da genética molecular, tornou-se inevitável a aplicação de seus princípios à malacologia, que passou a adotar as novas técnicas que hoje constituem a 'taxonomia molecular'. Com a disponibilidade destas técnicas, a opção por uma das duas modalidades taxonômicas depende da vocação do pesquisador. Desde que corretamente aplicadas, ambas atingem satisfatoriamente o mesmo objetivo.

REFERÊNCIAS

ADAMS, H. & ADAMS, A. *The Genera of Recent Mollusca*. II. London: John van der Voorst, 1858.

BAILEY, J. B.; MICHELSON, E. H. & PARAENSE, W. L. Differentiation of the sibling species *Biomphalaria occidentalis* and *Biomphalaria tenagophila* by the electrophoretic patterns of their hemoglobin. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 81: 319-322, 1986.

BAKER, F. The land and fresh-water mollusks of the Stanford Expedition to Brazil. *Proceedings of the Academy Science Philadelphia*, 66: 618-672, 1913.

BARBOSA, F. S. et al.The generic names *Australorbis*, *Biomphalaria*, *Platytaphius*, *Taphius* and *Tropicorbis* (Mollusca, Planorbidae). *Annals and Magazine of Natural History,* 13th Ser, 4: 371-375, 1961.

BECK, H. Index molluscorum praesentis aevi Musei Principis Augustissimi Christiani Frederici. *Mollusca Gastraeopoda Pulmonata*, 2: 101-124, 1837.

BIESE, W. A. Revisión de los moluscos terrestres y de agua dulce provistos de concha de Chile. *Boletin del Museo Nacional de Historia Natural*, 25: 115-137, 1951.

BROWN, A. P. & PILSBRY, H. A. Fresh-water mollusks of the Oligocene of Antigua. *Proceedings. Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 66: 209-213, 1914.

COMISSÃO INTERNACIONAL DE NOMENCLATURA ZOOLÓGICA (CINZ) Opinion 735. *Biomphalaria* Preston, 1910 (Gastropoda): grant under the plenary powers of precedence over *Planorbina* Haldeman, 1842, *Taphius* H. & A. Adams, 1855, and *Armigerus* Clessin, 1884. *Bulletin of Zoological Nomenclature*, 22: 94-99, [s.d.].

CORRÊA, L. R. & PARAENSE, W. L. Susceptibility of *Biomphalaria amazonica* to infection with two strains of *Schistosoma mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 13: 387-390, 1971.

DALL, W. H. Land and fresh-water mollusks. *Harriman Alaska Expedition*, 13: i-ix + 1-171, 1905.

DANCE, S. P. The Cumingian era. In: DANCE, S. P. *A History of Shell Collecting*. Leiden: EJ Brill-W Backhuys, 1986.

DUNKER, W. Diagnoses specierum novarum generis *Planorbis* collectionis Cumingianae. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 16: 40-43, 1848.

DUNKER, W. Die Familie der Limnaeidae enthaltend die Genera *Planorbis*, *Limnaeus*, *Physa* und *Amphipeplea*. In: MARTINI & CHEMNIZ. *Systematisches Conchylien-Cabinet*. 2. ed. Nürnberg: Bauer & Raspe, 1850. v. 1

DUNKER, W. *Ampullaria eximia. Zeitschr für Malakozoologie*, 10: 93-95, 1853.

DUNKER, W. Die Familie der Limnaeiden, etc. In: MARTINI, F. W. & CHEMNITZ, J. H. *Systematisches Conchylien-Cabinet.* 2. ed. Nürnberg: Bauer & Raspe, 1856. v. 17.

FISCHER, P. *Manuel de Conchyliologie*. Paris: F. Savy, 1887.

HUBENDICK, B. Phylogeny in the Planorbidae. *Transactions of the Zoological Society of London*, 28: 453-542, 1955.

LUCENA, D. T. Esboço ecológico do *A.* (*N.*) *tarsimaculatus* Goeldi, 1905, no Nordeste Brasileiro. *Folha Médica*, 27: 1-46, 1946.

LUTZ, A. Caramujos de agua doce do genero Planorbis, observados no Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 10: 65-82, 1918.

LUTZ, A. *Estudios de Zoología y Parasitología Venezolanas*. Rio de Janeiro: [s. n.], 1928.

MARTENS, E. Ueber einige Land-und Süsswasser-Schnecken aus Venezuela. *Malakozoologische Blätter*, 6: 59-66, 1859 [1860].

MARTENS, E. Die Binnenmollusken Venezuela's. *Festschrift zur Feier des hundertjährigen Bestehens der Gesellschaft Naturforschender Freunde zur Berlin*: 157-225. Ferd. Dümmlers Verlagsbuchhandlung, Harrwitz und Gossmann, Berlin, 1873.

MORICAND, S. Description d'une espèce du genre *Planorbis*. *Journal de Conchyliologie*, 4: 37-38, 1853.

ORBIGNY, A. Synopsis terrestrium et fluviatilium molluscorum,in suo per Americam meridionalem itinere collectorum. *Magasin de Zoologie*, Classe 5 (61-62): 1-44, 1835.

ORBIGNY, A. *Voyage dans l'Amérique Méridionale*, *1826-1833: mollusques*. Paris: P. Bertrand, 1837.

PARAENSE, W. L. The synonymy and distribution of *Biomphalaria peregrina* in the Neotropical region. *Revista Brasileira de Biologia*, 26: 269-296, 1950.

PARAENSE, W. L. Apertural lamellae in *Australorbis glabratus*. *Proceedings of the Malacological Society of London*, 32: 175-179, 1957.

PARAENSE, W. L. Shell versus anatomy in planorbid systematics. I. *Australorbis glabratus*. *Revista Brasileira de Biologia*, 21: 163-170, 1961a.

PARAENSE, W. L. The nomenclatre of Brazilian planorbids. II. *Australorbis tenagophilus* (Orbigny, 1835). *Revista Brasileira de Biologia*, 21: 343-349, 1961b.

PARAENSE, W. L. The nomenclature of Brazilian planorbids. III. *Australorbis stramineus* (Dunker, 1848). *Revista Brasileira de Biologia*, 23: 1-7, 1963.

PARAENSE, W. L. *Biomphalaria amazonica* and *B. cousini*, two new species of Neotropical planorbid molluscs. *Revista Brasileira de Biologia*, 26: 115-126, 1966a.

PARAENSE, W. L. The synonymy and distribution of *Biomphalaria peregrina* in the Neotropical region. *Revista Brasileira de Biologia*, 26: 269-296, 1966b.

PARAENSE, W. L. Planorbídeos hospedeiros intermediários do *Schistosoma mansoni*. In: CUNHA, A. S. (Org.) *Esquistossomose mansônica*. São Paulo: Sarvier, Universidade de São Paulo, 1970.

PARAENSE, W. L. Fauna planorbídica do Brasil. In: LACAZ, C. S.; BARUZZI, R. G. & SIQUEIRA JR., W. (Orgs.) *Introdução à Geografia Médica do Brasil*. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1972.

PARAENSE, W. L. A natural population of *Helisoma duryi* in Brazil. *Malacologia*, 15: 369-376, 1976.

PARAENSE, W. L. *Biomphalaria occidentalis* sp.n. from South America (Mollusca Basommatophora Pulmonata). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 76: 199-211, 1981.

PARAENSE, W. L. A survey of planorbid molluscs in the Amazonian region of Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 78: 343-361, 1983.

PARAENSE, W. L. *Planorbis meridaensis* Preston, 1907 (Gastropoda: Planorbidae), a synonym of *Biomphalaria prona* (Martens, 1873). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87: 545-548, 1992.

PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. Susceptibility of *Biomphalaria peregrina* from Brazil and Ecuador to two strains of *Schistosoma mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 15: 127-130, 1973.

PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. Unsusceptibility of *Biomphalaria occidentalis* to infection with a strain of *Schistosoma mansoni*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 77: 55-58, 1982.

PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. Further experiments on susceptibility of *Biomphalaria amazonica* to *Schistosoma mansoni*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 80: 259-262, 1985.

PARAENSE, W. L. & DESLANDES, N. Observations on the morphology of *Australorbis glabratus*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 53: 87-103, 1955a.

PARAENSE, W. L. & DESLANDES, N. Observations on the morphology of *Australorbis nigricans*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 53: 121-134, 1955b.

PARAENSE, W. L. & DESLANDES, N. Studies on *Australorbis centimetralis*. I. Morphology, in comparison with *A. glabratus*. *Revista Brasileira de Biologia*, 15: 293-307, 1955c.

PARAENSE, W. L. & DESLANDES, N. A redescription of *Taphius andecolus* (Orbigny, 1835) (Pulmonata, Planorbidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 17: 235-243, 1957.

PARAENSE, W. L.; FAURAN, P. & COURMES, E.Observations sur la morphologie, la repartition géographique et les gîtes d'*Australorbis schrammi*. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 57: 1236-1254, 1964.

PARAENSE, W. L. et al. *Biomphalaria prona* (Gastropoda: Planorbidae): a morphological and biochemical study. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87: 171-179, 1992.

PARODIZ, J. J. The tertiary non-marine mollusca of South America. *Annals of the Carnegie Museum,* 40: 1-242, 1969.

PILSBRY, H. A. South American land and fresh-water mollusks: notes and descriptions. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 76: 49-66, 1924.

PILSBRY, H. A. Review of the Planorbidae of Florida, with notes on other members of the family. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 86: 29-66, 1934.

PILSBRY, H. A. & BEQUAERT, J. The aquatic molluscs of the Belgian Congo. With a geographical and ecological account of Congo malacology. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 53: 69-602, 1927.

POINTIER, J. P. et al. A potential snail host of schistosomiasis in Bolivia: *Biomphalaria amazonica* Paraense, 1966. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97: 793-796, 2002.

PRESTON, H. B. Descriptions of new species of land and freshwater shells from Central and South America. *Annals and Magazine of Natural History,* 20 (series 7): 490-498, 1907.

PRESTON, H. B. Additions to the non-marine molluscan fauna of British and German East Africa and Lake Albert Edward. *Annals and Magazine of Natural History* 6, 8th Ser: 526-536, 1910.

SAY, T. Account of two new genera, and several new species, of fresh water and land shells. *Journal of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 1: 276-284, 1818.

SOWERBY, G. B. *The Genera of Recent and Fossil Shells*. Part 4. *Planorbis*. London: J. Stirling, 1822.

WAGNER, J. A. *Testacea Fluviatilia Brasiliensia*. Monachi: C. Wolff, 1827.

WRIGHT, C. A. Generic nomenclature of the intermediate hosts of *Schistosoma mansoni*. *Nature*, 183: 906-907, 1959.

9 Importância Epidemiológica e Biologia Molecular Aplicada ao Estudo dos Moluscos do Gênero *Biomphalaria*

Omar dos Santos Carvalho
Liana Konovaloff Jannotti-Passos
Roberta Lima Caldeira

Biomphalaria glabrata, principal hospedeiro intermediário do *Schistosoma mansoni* no Brasil. No lado direito da foto, uma desova do molusco.

As três espécies hospedeiras intermediárias de *Schistosoma mansoni* no Brasil, *Biomphalaria glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea* possuem níveis diferentes de susceptibilidade, importância epidemiológica variável e diferença na amplitude de distribuição geográfica.

A identificação desses moluscos é importante para um conhecimento melhor da epidemiologia da doença. Entretanto, a identificação morfológica algumas vezes é difícil ou mesmo impossível, razão pela qual se introduz a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) na taxonomia, filogenia e diagnóstico de infecção desses moluscos. Desenvolvem-se estratégias moleculares que permitem, ao mesmo tempo, identificar o hospedeiro intermediário e a infecção por *S. mansoni*.

IMPORTÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA

Para as Américas e a África são referidas 37 espécies de *Biomphalaria*; porém, acredita-se que muitas dessas estejam em sinonímia (Mandahl-Barth, 1957; Malek, 1985; Brown, 1994; Paraense, 2004) (Tabela 1). Entretanto, segundo Paraense (comunicação pessoal, 2005), é importante salientar que várias espécies – principalmente as africanas – são mal definidas anatomicamente, o que torna impossível diferençá-las. De fato, a taxonomia das espécies africanas tem, até certo ponto, permanecido atrasada em relação às formas americanas, que podem ser identificadas com maior grau de confiança. Tem havido realmente pouca modificação no *status* taxonômico das bionfalárias africanas durante as duas últimas décadas, e a maioria dos autores ainda segue a classificação proposta por Mandahl-Barth (1957) (WHO, 1980). A situação relatada prevalece até hoje.

Quanto à susceptibilidade, nove espécies são consideradas susceptíveis, oito infectaram-se experimentalmente, nove são refratárias e as demais não foram estudadas quanto à susceptibilidade a *Schistosoma mansoni* (Tabela 1).

Tabela 1 – Moluscos do gênero *Biomphalaria*

Espécie	Distribuição geográfica	Susceptibilidade a *S. mansoni*
B. glabrata (Say, 1818)	Antígua, Brasil, Curaçau, Dominica, Egito, Guadalupe, Guiana Francesa, Haiti, Ilhas Saint Kitts, Martinica, Montserrat, Nigéria, Porto Rico, República Dominicana, Saint Martin, Santa Lúcia, São Cristóvão, Suriname, Venezuela, Vieques	SUSC
B. pfeifferi (Krauss, 1848)	África do Sul (localidade-tipo); Argélia, Angola, Botsuana, Camarões, Chade, Congo, Daomé (atual Benin), Etiópia, Gabão, Gâmbia, Gana, Guiné, Libéria, Líbia, Madagascar, Malaui, Moçambique, Nigéria, Quênia, República Centro-Africana, Rodésia, Senegal, Serra Leoa, Somália, Suazilândia, Sudão, Tanzânia, Transvaal, Uganda, Zaire, Zâmbia	SUSC
B. alexandrina (Ehrenberg, 1831)	Egito, Sudão	SUSC
B. sudanica (Martens, 1870)	Sudão, Uganda, Etiópia, Quênia, Tanzânia, Zaire, Zâmbia	SUSC
B. straminea (Dunker, 1848)	Venezuela, Suriname, Guiana Francesa, Guiana, Peru, Brasil, Paraguai. Argentina, Dominica, Granada, Guadalupe, Martinica, República Dominicana, Trinidad, Uruguai, Costa Rica e China	SUSC
B. tenagophila (Orbigny, 1835)	Argentina, Paraguai, Uruguai, Brasil, Peru, Bolívia e República Democrática do Congo	SUSC
B. choanomphala (Martens, 1879)	Tanzânia, Uganda, Quênia	SUSC
B. camerunensis (Boettger, 1941)	Mongongo, Camarões, Gana, Nigéria, República Centro-Africana, Zaire	SUSC
B. amazonica Paraense, 1966	Brasil, Bolívia e Colômbia	IE
B. peregrina (Orbigny, 1835)	Equador, Bolívia, Chile, Brasil, Paraguai, Peru, Uruguai, Argentina e Colômbia	IE
B. aff. *straminea* Paraense & Corrêa, 1989	Espinillar, Uruguai	IE
B. havanensis (Pfeiffer, 1839)	Haiti, Porto Rico (EUA), Cuba, Venezuela	IE

Susceptível = SUSC; Refratária = REF; Infecção experimental = IE; Sem informação = SI.

Tabela 1 – Moluscos do gênero *Biomphalaria* (continuação)

Espécie	Distribuição geográfica	Susceptibilidade a *S. mansoni*
B. helophila (Orbigny, 1835)	Peru, Cuba, Costa Rica, Guatemala, Belize, Haiti, México, Saint Thomas, Costa Rica, El Salvador, República Dominicana, Porto Rico, Barbados e Nicarágua	IE
B. stanleyi (Smith, 1888)	Congo, Uganda, Chade, Ruanda	IE
B. sericea (Dunker, 1848)	Equador	IE
B. smithi Preston, 1910	Uganda	IE
B. obstructa (Morelet, 1849)	Estados Unidos, México, Porto Rico, Guatemala, El Salvador, Belize e Cuba	REF
B. intermedia Paraense & Deslandes, 1962	Brasil e Argentina	REF
B. occidentalis Paraense, 1981	Brasil, Paraguai e Argentina	REF
B. oligoza Paraense, 1974	Bolívia, Brasil e Argentina	REF
B. tenagophila guaibensis Paraense, 1984	Brasil, Uruguai e Argentina	REF
B. kuhniana (Clessin, 1883)	Suriname, Brasil, Venezuela, Panamá e Colômbia	REF
B. schrammi (Crosse, 1864)	Guiana Francesa, Guadalupe e Brasil	REF
B. orbignyi Paraense, 1975	Argentina e Uruguai	REF
B. trigyra (Philippi, 1869)	Peru e Equador	REF
B. hermanni (Boettger, 1910)	Namíbia	SI
B. germaini (Ranson, 1953)	Argélia	SI
B. gaudi (Ranson, 1953)	Dakar	SI
B. angulosa Mandahl-Barth, 1957	Tanzânia, Malaui, Zâmbia	SI
B. temascalensis (Rangel-Ruiz, 1987)	México	SI
B. prona (Martens, 1873)	Venezuela	SUSC
B. subprona (Martens, 1899)	México e Guatemala	SI
B. andecola (Orbigny, 1835)	Bolívia, Peru e Chile	SI
B. equatoria (Cousin, 1887)	Equador	SI
B. cousini Paraense, 1966	Equador	SI
B. nicaraguana (Morelet, 1851)	Nicarágua	SI
B. edisoni Estrada et al., 2006	Colômbia	SI

Susceptível = SUSC; Refratária = REF; Infecção experimental = IE; Sem informação = SI.

B. glabrata é a mais importante hospedeira intermediária de *S. mansoni* nas Américas. Está presente e é responsável pela transmissão da esquistossomose em quase todas as áreas onde ocorre a doença (ver o capítulo 11 – Distribuição Espacial de *Biomphalaria glabrata*, *B. straminea* e *B. tenagophila*, Moluscos Hospedeiros Intermediários do *S. mansoni* no Brasil). Esta espécie é altamente susceptível a *S. mansoni*. Experimentos de susceptibilidade utilizando vinte populações de *B. glabrata* originárias de diversas regiões do Brasil e três populações oriundas de Porto Rico, Ilhas Saint Kitts e Venezuela revelaram índices

de infecção variando de 0% a 100%, das quais 17 delas (74%) apresentaram taxas de infecção superiores a 50% (Paraense & Corrêa, 1963). Tais experimentos foram realizados com amostra de *S. mansoni* isolada de paciente de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

A compatibilidade entre *B. glabrata* e *S. mansoni* foi demonstrada (Souza, Jannotti-Passos & Freitas, 1995) com a utilização de moluscos de Belo Horizonte e três linhagens do parasito (LE: isolada de paciente residente em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil e mantida em laboratório desde 1968; SJ: isolada de *B. tenagophila* originários de São José dos Campos, São Paulo, Brasil, na década de 1960; AL: isolada, em 1980, de *B. glabrata* originários do estado de Alagoas, Brasil). Neste estudo foi utilizado o método de Frandsen, que descreve seis classes de moluscos resistentes (Frandsen, 1979). *B. glabrata* revelou alto nível de compatibilidade (classe VI) com as linhagens do parasito utilizadas (Tabela 2). Algumas populações têm apresentado baixas taxas de infecção tanto natural como experimental. Como exemplos deste fato podem ser citadas as observações realizadas com uma população de *B. glabrata* oriunda de Salvador, Bahia (Brasil), que mostrou taxas baixas ou nulas de infecção quando expostas a várias amostras de *S. mansoni* (Paraense & Corrêa, 1963). Por outro lado, alguns experimentos têm demonstrado a diminuição da susceptibilidade de algumas populações de *B. glabrata* às cepas de *S. mansoni* (Conceição et al., 1999).

B. straminea é menos susceptível que *B. glabrata.* Entretanto, esta espécie possui a distribuição mais abrangente, entre as três espécies (ver capítulo 11 deste livro). De fato, estudos realizados durante os anos de 1954 e 1955 com *B. straminea* oriundas de 17 municípios do estado de Pernambuco (Barbosa & Coelho, 1956) revelaram taxas de infecção inferiores a 1%. Contudo, quando são analisados os dados de prevalência obtidos em 1950 (Paraense & Corrêa, 1963), depara-se com taxas de infecção humana, em 14 dos 17 municípios, superiores a 50%. Estes dados demonstram que apesar de serem encontradas no campo com baixas taxas de infecção, *B. straminea* é capaz de manter elevadas taxas de infecção humana.

Os resultados da avaliação da compatibilidade com as três linhagens de *S. mansoni* (LE, SJ e AL) (Souza, Jannotti-Passos & Freitas, 1995) demonstraram que *B. straminea* exibe os mais baixos níveis de infecção, sendo considerada muito pouco ou pouco compatível com as linhagens do parasito. Os índices de compatibilidade obtidos encontravam-se nas classes I e II de Frandsen (Tabela 2) (Frandsen, 1979).

Tabela 2 – Compatibilidade de *Biomphalaria tenagophila*, *B. straminea* e *B. glabrata* para diferentes linhagens de *Schistosoma mansoni*

Moluscos		Linhagem de *S. mansoni*	Índice (TCP/100)	Compatibilidade	
Espécie	Procedência			Classe	Descrição
B. tenagophila	Pampulha	LE	37,996	II	Pouco Compatível
	Pampulha	SJ	74,226	III	Compatível
	Pampulha	AL	52,277	III	Compatível
B. straminea	Paracatu	LE	18,090	II	Pouco Compatível
	Paracatu	SJ	9,484	I	Muito pouco compatível
	Paracatu	AL	20,508	II	Pouco Compatível
B. glabrata	Laboratório	LE	1.002,599	VI	Extremamente Compatível
	Laboratório	SJ	1.039,065	VI	Extremamente Compatível
	Laboratório	AL	588,828	VI	Extremamente Compatível

Fonte: Souza et al. (1995).
TCP/100 = número total de cercárias produzidas, multiplicado por cem e dividido pelo número de moluscos expostos.

B. tenagophila tem importância epidemiológica na transmissão de *S. mansoni* nos estados da região Sul e Sudeste. A espécie é responsável pela maioria dos casos autóctones de esquistossomose no estado de São Paulo e pelos focos da doença no estado de Santa Catarina. Em Minas Gerais este molusco é responsável pelo foco de esquistossomose na cidade de Itajubá, no sul do estado (Carvalho et al., 1985a), e foi encontrado naturalmente infectado nos municípios de Jaboticatubas (Melo & Pereira, 1985) e Belo Horizonte, no lago da Pampulha (Carvalho et al., 1985b). Por outro lado, uma população originária da Reserva Ecológica do Taim (Rio Grande do Sul), mantida no moluscário do Grupo Interdepartamental de Estudo sobre Esquistossomose/UFMG há cerca de 25 anos, tem-se mostrado sistematicamente refratária a inúmeras amostras de *S. mansoni* com as quais já foi desafiada (Santos et al., 1979; Corrêa, Coelho & Freitas, 1979; Coelho, 1995).

Após a descrição de *B. occidentalis* (Paraense, 1981), que ocupa grande área no oeste do Brasil e é morfologicamente muito semelhante a *B. tenagophila*, o mapa de distribuição desta última espécie tem sofrido constantes modificações. De fato, *B. tenagophila* tem cedido lugar a *B. occidentalis* nos estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e no extremo oeste de São Paulo (Paraense, 1986). Dados da Superintendência de Controle de Endemias (Sucen) assinalaram a presença de *B. tenagophila* em 208 municípios do estado de São Paulo (Piza et al., 1972). Posteriormente ficou demonstrado que em 34 destes municípios os moluscos, inicialmente identificados como *B. tenagophila*, eram na verdade *B. occidentalis* (Teles, 1989). Nesse último estudo, *B. occidentalis* foi notificada em 16,9% (97) dos municípios do estado de São Paulo existentes à época.

B. tenagophila exibiu um grau de compatibilidade intermediário com as linhagens SJ, LE e AL de *S. mansoni*, que variou da classe II (LE) à III (SJ e AL) quando se utilizou o método de Frandsen (Souza, Jannotti-Passos & Freitas, 1995) (Tabela 2, mostrada anteriormente).

BIOLOGIA MOLECULAR APLICADA AO ESTUDO DE MOLUSCOS DO GÊNERO *Biomphalaria*

Durante as últimas décadas, têm sido verificados avanços relevantes no campo da sistemática de moluscos, principalmente a partir dos anos 50, com a introdução da chamada 'Nova Sistemática', descrita por Mayr (1942) e utilizada em planorbídeos por Paraense & Deslandes (1956), que preconizavam a adoção simultânea de métodos de outras disciplinas, tais como genética, embriologia, citologia, histologia, fisiologia, ecologia e paleontologia, além da morfologia. O surgimento da sistemática molecular ocorreu em fins do século passado, com a ampliação da genética molecular abordando diversos problemas antes considerados de difícil solução pelas metodologias tradicionais. Com a popularização da biologia molecular, diversos trabalhos envolvendo o gênero *Biomphalaria* foram realizados. Os estudos iniciais com estes moluscos utilizaram as técnicas de isoenzimas e RFLP; entretanto, as possibilidades oferecidas pelo desenvolvimento da reação em cadeia da polimerase (PCR) contribuíram de maneira expressiva para aumentar o conhecimento desse gênero. No Laboratório de Helmintoses Intestinais esses estudos iniciaram-se no começo da década de 1990, com a vinda, para o Centro de Pesquisa René Rachou/Fiocruz (CPqRR), do biologista molecular Andrew J. G. Simpson. Ao final de uma conferência na qual esse eminente cientista apresentou o projeto que iria desenvolver no CPqRR, utilizando técnicas moleculares no estudo de *S. mansoni*, o chefe do Laboratório de Helmintoses Intestinais questionou-o sobre a possibilidade de estudos semelhantes serem realizados com os moluscos

hospedeiros intermediários de *S. mansoni*, em decorrência das dificuldades de separação de algumas espécies do gênero *Biomphalaria*. Iniciava-se naquele momento um projeto pioneiro que possibilitou ampliar consideravelmente os conhecimentos sobre os hospedeiros intermediários de *S. mansoni* no Brasil. De fato, a equipe do Laboratório de Helmintoses Intestinais do CPqRR foi a primeira a utilizar a PCR no estudo dos moluscos do gênero *Biomphalaria*.

Neste capítulo abordaremos o desenvolvimento de tais pesquisas e seus impactos, bem como as inúmeras expectativas e perspectivas que se abriram. Para efeito didático, o tema será dividido em:

- Taxonomia molecular;
- Variabilidade genética;
- Filogenia;
- Genoma de *Biomphalaria glabrata*;
- Detecção de moluscos infectados com *S. mansoni*.

Taxonomia Molecular

A identificação específica dos moluscos brasileiros do gênero *Biomphalaria,* utilizando caracteres morfológicos, não é conclusiva, esbarrando em uma série de dificuldades, tais como tamanho dos moluscos, similaridade entre os caracteres utilizados para diagnóstico, falta de profissionais capacitados, processo de fixação inadequado etc. Desta forma, tornava-se necessária a utilização de outras metodologias com o objetivo de auxiliar a morfologia e diferenciar espécies presentes em determinados criadouros. Entretanto, o desenvolvimento da taxonomia molecular não resulta num desprezo pelos dados morfológicos, pelo contrário: tem sido utilizada como uma ferramenta auxiliar em determinadas situações nas quais os caracteres morfológicos não são evidentes. Estudos que incorporam os dois tipos de análise podem gerar dados que permitem uma melhor interpretação e compreensão da diversidade biológica dos organismos em estudo. No entanto, é importante reconhecer que cada método tem suas vantagens e desvantagens (Moritz & Hillis, 1996). De fato, o renomado malacologista brasileiro Wladimir Lobato Paraense enfatiza que tanto a taxonomia morfológica quanto a molecular, desde que corretamente aplicadas, atingem satisfatoriamente o mesmo objetivo (Paraense, 2003). Para um entendimento dos estudos realizados até o momento sobre a taxonomia molecular e filogenia do gênero *Biomphalaria* é importante o conhecimento sobre o gene do RNA ribossomal. O genoma de eucariotos contém diversas cópias desse gene, que se encontra geralmente agrupado em diversos cromossomos (Long & Dawid, 1980). Tais genes são organizados da seguinte forma: duas subunidades convencionalmente conhecidas como SSU (18S) e LSU (28S) e uma subunidade menor (5.8S) localizada entre dois espaçadores transcritos internos (ITS1 e ITS2), que separam as diferentes subunidades. Um espaçador transcrito externo (ETS) é encontrado acima da SSU (Figura 1). Os espaçadores transcritos contêm sinais para o processamento da transcrição do gene do rRNA. Cópias adjacentes das unidades de rDNA são separadas por espaçadores não transcritos (NTS). Análises comparativas das seqüências nucleotídicas desse gene e suas regiões espaçadoras são muito informativas em estudos filogenéticos, uma vez que existem regiões que sofrem taxas evolutivas distintas. As regiões mais conservadas (18S, 28S e 5.8S) têm sido muito utilizadas para estudos de relações filogenéticas nos

grandes taxa, enquanto as regiões espaçadoras (ITS1 e ITS2) vêm sendo utilizadas em estudos filogenéticos entre taxa relacionados que divergiram nos últimos cinqüenta milhões de anos. Além disso, as variações nas regiões espaçadoras têm sido utilizadas para identificar espécies ou cepas, sendo um bom marcador em estudos de genética de população. As amplificações de ITS1 e ITS2 por PCR são facilitadas pela presença dos genes conservados que flanqueiam essas regiões (Palumbi, 1996).

Figura 1 – Organização do gene codificador do RNA ribossomal. Espaçador não transcrito (NTS); Espaçador transcrito externo (ETS); duas subunidades convencionalmente conhecidas como SSU (18S) e LSU (28S) e um rRNA de 5.8S localizado entre dois espaçadores transcritos internos (ITS1 e ITS2), que separam as diferentes subunidades

NTS	ETS	18S (SSU)	ITS-1	5.8S	ITS-2	28S (LSU)

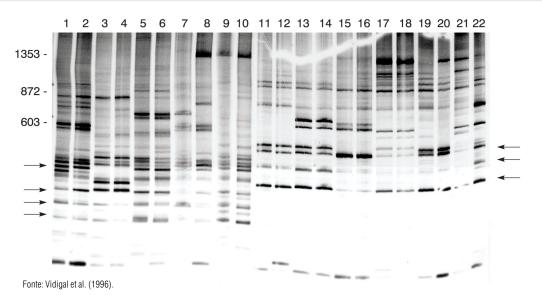
Os estudos pioneiros com isoenzimas reportaram polimorfismos nos padrões de esterases capazes de diferenciar *B. glabrata*, *B. tenagophila*, *B. peregrina*, *B. straminea* e *B. obstructa* (Malek & File, 1971). Foi padronizado um protocolo para o estudo taxonômico de *Biomphalaria*, verificando-se a utilidade da técnica de isoenzimas para a identificação específica de moluscos desse gênero (Henricksen & Jelnes, 1980). A eletroforese de hemolinfa foi utilizada na diferenciação de duas espécies semelhantes, *B. tenagophila* e *B. occidentalis*. Entretanto, não foi possível diferenciar *B. glabrata* de *B. straminea*, apesar de os perfis serem diferentes de *B. occidentalis* e *B. tenagophila* (Bailey, Michelson & Paraense, 1986). Padrões isoenzimáticos também foram utilizados para separar *B. tenagophila* de *B. occidentalis.* Os coeficientes de variabilidade genética interespecíficos e intrapopulacionais foram atribuídos ao efeito fundador (Mascara & Morgante, 1995). Esterases de *B. glabrata* também foram eficientes na separação das três principais espécies hospedeiras de *S. mansoni* (Narang & Narang, 1976).

Estudos com *B. straminea, B. intermedia* e *B. peregrina* utilizando isoenzimas demonstraram que, apesar da presença de poucos *loci* polimórficos, é possível fazer a separação dessas três espécies (Hofmann, 1987). Para *B. straminea* foi demonstrada a existência de diferenças isoenzimáticas entre populações de diversas localidades da América do Sul, inclusive do Brasil. Entre os moluscos estudados, encontravam-se exemplares de *B. kuhniana* de Tucuruí (rio Tocantins, estado do Pará). Observou-se que *B. kuhniana* apresentava diferenças genéticas desprezíveis em relação a *B. straminea*. Considerou-se que essas diferenças poderiam ser atribuídas ao isolamento geográfico ou ainda que *B. straminea* seria, na verdade, um complexo de espécies (Pointier, Paraense & Mazille, 1993). Entretanto, já havia sido demonstrado um completo isolamento reprodutivo entre as duas espécies, utilizando exemplares pigmentados de *B. kuhniana* de Tucuruí (rio Tocantins, estado do Pará) e albinos de *B. straminea* de Tangará (Rio Grande do Norte). Associada a esse isolamento reprodutivo, a existência de uma grande semelhança entre essas espécies culminou em seu agrupamento num complexo denominado complexo *B. straminea*, no qual também foi incluída *B. intermedia* (Paraense, 1988).

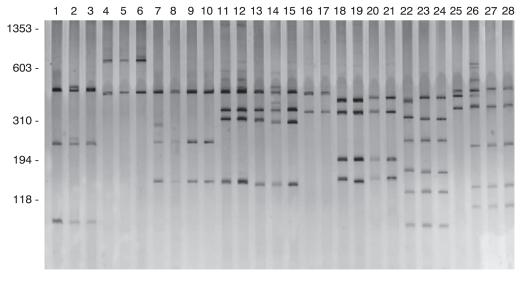
Outra alternativa na taxonomia desses moluscos é a utilização de RFLP. De fato, com o emprego de várias enzimas de restrição e uma sonda para o gene de rRNA de *S. mansoni*, foi possível comparar os padrões de RFLPs de *B. glabrata* com os obtidos para *B. straminea*, *B. tenagophila* e *B. schrammi*. Observou-se um fragmento de 2,5 Kb somente em *B. glabrata*, útil para distinguir *B. glabrata* de outras espécies (Knight et al., 1991).

O nível de polimorfismo intraespecífico detectado em *Biomphalaria* por Rapd sugere que essa técnica é inadequada para uso na identificação específica de moluscos, conforme observado na subseção Variabilidade Genética, deste capítulo. Em virtude disso, foi padronizada a utilização da técnica de LS-PCR com o uso de iniciadores desenhados para amplificar uma porção do gene do rRNA que permitiu a diferenciação entre *B. glabrata* e *B. tenagophila* de seis diferentes localidades do Brasil (Figura 2). Esses iniciadores produziram um perfil complexo de bandas, sendo que apenas quatro e três fragmentos espécie-específicos foram observados, respectivamente, para *B. glabrata* e *B. tenagophila* (Vidigal et al., 1996). Essa técnica foi também utilizada para separar *B. tenagophila* de *B. occidentalis* (Pires et al., 1997), indistinguíveis pela maioria dos caracteres morfológicos (Paraense, 1981). A caracterização de *B. tenagophila* deu-se pela presença de um fragmento duplo de 500 pb, e outros dois de 400 pb e 310 pb, enquanto *B. occidentalis* foi caracterizada pela presença do fragmento espécie-específico de 130 pb. Os perfis foram polimórficos para ambas as espécies; entretanto, mostraram-se reprodutíveis em todos os exemplares de cada espécie (Pires et al., 1997). Essa técnica, apesar de separar as espécies estudadas, apresentou perfis polimórficos, dificultando a interpretação dos resultados.

Figura 2 – Gel de poliacrilamida 4%, corado pela prata, mostrando os perfis de LS-PCR obtidos com o iniciador NS1-ET1 de espécies brasileiras de *Biomphalaria*. Canaletas 1 e 2: *B. glabrata* de Belém (Pará); 3-4: *B. glabrata* de Cururupu (Maranhão); 5-6: *B. glabrata* de Touros (Rio Grande do Norte); 7-8: *B. glabrata* de Pontezinha (Pernambuco); 9-10: *B. glabrata* de Aracaju (Sergipe); 11-12: *B. tenagophila* de Paracambi (Rio de Janeiro); 13-14: *B. tenagophila* de Imbé (Rio Grande do Sul); 15-16: *B. tenagophila* de Joinville (Santa Catarina); 17-18: *B. tenagophila* de Araçatuba (São Paulo); 19-20: *B. tenagophila* de Formosa (Goiás); 21-22: *B. tenagophila* de Vila Velha (Espírito Santo). As bandas diagnóstico-específicas são indicadas por setas e os pesos moleculares são mostrados à esquerda do gel

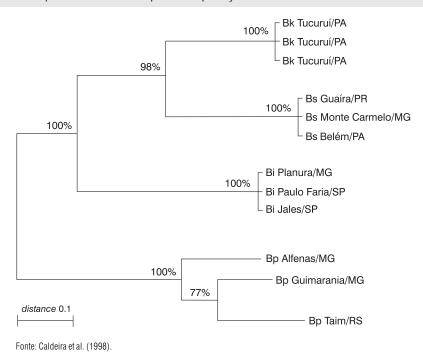
Fonte: Vidigal et al. (1996).

A técnica de PCR-RFLP (reação em cadeia da polimerase associada ao polimorfismo de tamanho de fragmento de restrição) foi utilizada, pela primeira vez, no mesmo trabalho em que a técnica da PCR foi descrita (Saiki et al., 1985). Na década seguinte esta técnica foi empregada no estudo das espécies hospedeiras

intermediárias de *S. mansoni*. A região do ITS completa foi amplificada usando os iniciadores ETTS2 (5'-TAACAAGGTTTCCGTAGGTGAA-3') e ETTS1 (5'-TGCTTAAGTTCAGCGGGT-3') ancorados, respectivamente, nas extremidades conservadas dos genes 18S e 28S (Kane & Rollinson, 1994) do rDNA. A amplificação específica, pela PCR, do ITS de *B. glabrata*, *B. straminea* e *B. tenagophila* resultou em um produto de aproximadamente 1,3 Kb, que foi tratado com oito enzimas de restrição (*Dde*I, *Msp*I, *Sau*3aI, *Hinf*I, *Mnl*I, *Hae*III, *Rsa*I, e *Alu* I). Os perfis mais promissores foram os produzidos com a enzima *Dde*I. *B. glabrata* apresentou três fragmentos de aproximadamente 500 pb, 220 pb e 80 pb, respectivamente (Figura 3, canaletas 1-3) e *B. tenagophila,* dois fragmentos de aproximadamente 800 pb e 470 pb (Figura 3, canaletas 4-6). *B. straminea* foi caracterizada pela presença de quatro fragmentos de aproximadamente 470 pb, 310 pb, 280 pb e 120 pb (Figura 3, canaletas 13-15). Além disso, a utilização de desovas como fonte de DNA para a taxonomia molecular desses moluscos foi padronizada. Os resultados alcançados têm uma importante aplicação prática, sobretudo quando o número de exemplares coletados é pequeno ou o molusco adulto necessita ser preservado para estudos posteriores (Vidigal et al., 1998).

Figura 3 – Gel de poliacrilamida 8%, corado pela prata, mostrando os perfis de RFLP obtidos pela digestão com a enzima DdeI do rDNA ITS de espécies de *Biomphalaria* brasileiras. Canaleta 1: *B. glabrata* de Belém (Pará); 2: *B. glabrata* de Sabará (Minas Gerais); 3: *B. glabrata* de Esteio (Rio Grande do Sul); 4: *B. tenagophila* de Formosa (Goiás); 5: *B. tenagophila* de Vespasiano (Minas Gerais); 6: *B. tenagophila* de Imbé (Rio Grande do Sul); 7: *B. occidentalis* de Campo Grande (Mato Grosso do Sul); 8: *B. occidentalis* de Capetinga (Minas Gerais); 9-10: *B. t. guaibensis* de Esteio (Rio Grande do Sul); 11-12: *B. kunhiana* de Tucuruí (Pará); 13: *B. straminea* de Picos (Piauí); 14: *B. straminea* de Guaíra (Paraná); 15: *B. straminea* de Florianópolis (Santa Catarina); 16: *B. intermedia* de Itapagipe (Minas Gerais); 17: *B. intermedia* de Pindorama (São Paulo); 18: *B. peregrina* de Alfenas (Minas Gerais); 19: *B. peregrina* de Bom Jesus da Penha (Minas Gerais); 20: *B. oligoza* de Florianópolis (Santa Catarina); 21: *B. oligoza* de Esteio (Rio Grande do Sul); 22: *B. schrammi* de Itaú de Minas (Minas Gerais); 23: *B. schrammi* de Cássia (Minas Gerais); 24: *B. schrammi* de Ilicínea (Minas Gerais); 25-26: *B. amazonica* de Benjamin Constant (Amazonas); 27-28: *B. amazonica* de Barão de Melgaço (Mato Grosso do Sul). Marcadores de peso molecular são mostrados à esquerda do gel

Fonte: Vidigal et al. (2000a).

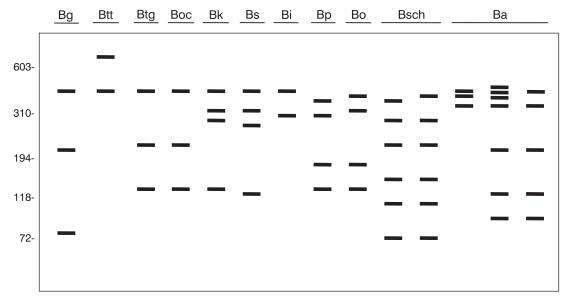
A amplificação específica, pela PCR, do ITS foi também utilizada na diferenciação das espécies de moluscos do complexo *B. straminea*: *B. straminea*, *B. intermedia* e *B. kuhniana*. Neste estudo foi incorporada *B. peregrina*, que sob o ponto de vista morfológico é muito semelhante às três espécies inicialmente mencionadas. Foram utilizadas seis enzimas de restrição (*Dde*I, *Mnl*I, *Hae* III, *Rsa* I, *Hpa* II e *Alu* I) e o melhor perfil para separação dessas espécies foi obtido com *Dde*I (Figura 3, canaletas 11-19). A partir das bandas obtidas com todas as enzimas foi construída uma matriz de táxon/caractere utilizada para inferir a distância e similaridade genética entre essas espécies. Foram utilizados dois métodos de agrupamento e dois coeficientes (NJ e UPGMA; coeficiente de distância de Nei e Li e coeficiente de similaridade de Dice), os quais produziram árvores de mesma topologia com três distintos grupos: *B. straminea* e *B. kuhniana*; *B. intermedia*; *B. peregrina*. Na Figura 4 é demonstrada a árvore construída com 79 bandas produzidas pelas seis enzimas, refletindo a distância genética de 12 exemplares das quatro espécies. O percentual médio de bandas compartilhadas entre todos os possíveis pares foi de 44%. Esses grupos suportavam-se por altos valores de *bootstrap* (98% e 100%). Em ambas as árvores foi observada alta relação de similaridade entre primeiro e segundo grupos, reforçando o agrupamento destas espécies no complexo *B. straminea* (Caldeira et al., 1998).

Figura 4 – Árvore *Neighbor-joining* de *B. kuhniana*, *B. straminea*, *B. intermedia* e *B. peregrina,* construída a partir dos perfis de PCR-RFLPs, produzida com todas as enzimas utilizadas. Os números são os valores percentuais de *bootstrap* baseado em mil pseudoreplicações

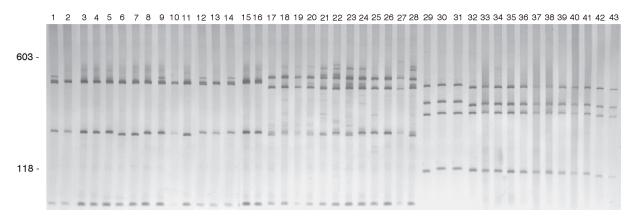
Fonte: Caldeira et al. (1998).

A PCR-RFLP foi utilizada no estudo de outras três espécies semelhantes: *B. tenagophila*, *B. t. guaibensis* e *B. occidentalis*, indistinguíveis pela morfologia da concha e pela maioria dos caracteres do sistema genital. Foram utilizados moluscos de diferentes localidades de Brasil, Argentina e Uruguai, com sete enzimas (*HaeI*II, *Dde*I, *Alu*I, *Mnl*I, *Hpa*II, *Hfa*I e *Rsa*I). A enzima *Alu*I foi a que gerou perfis

mais informativos para a separação dessas espécies. As demais enzimas não produziram perfis que permitissem a separação das espécies, além de apresentarem um extenso polimorfismo intraespecífico. Os perfis de restrição obtidos com todas as enzimas também foram usados para calcular o percentual médio de bandas compartilhadas entre todos os possíveis pares e esses dados foram usados para análise de agrupamento. Verificou-se um agrupamento mais estreito entre *B. occidentalis* e *B. t. guaibensis* do que entre *B. tenagophila* e sua subespécie. Em decorrência disso, foi proposto o agrupamento de *B. tenagophila, B. occidentalis* e *B. t. guaibensis* em um complexo denominado complexo *B. tenagophila* (Spatz et al., 1999).

O perfil espécie-específico das dez espécies e uma subespécie de moluscos brasileiros do gênero *Biomphalaria* foi estabelecido, com ênfase nas espécies *B. oligoza*, *B. schrammi* e *B. amazonica* (Vidigal et al., 2000b). Na Figura 3, vista anteriormente, são demonstrados os perfis de RFLP de rDNA-ITS produzidos pela digestão, com a enzima *Dde*I, de todas as espécies de *Biomphalaria* do Brasil. Os perfis obtidos com essa enzima permitiram uma fácil separação da maioria das espécies estudadas, com exceção de *B. occidentalis* e *B. t. guaibensis* (canaletas 7-8 e 9-10, respectivamente), que apresentaram perfis idênticos, e *B. oligoza* e *B. peregrina* (canaletas 18-19 e 20-21, respectivamente), que apresentaram perfis muito semelhantes, porém distinguíveis. Os perfis obtidos com a enzima *Dde*I para as dez espécies e uma subespécie das bionfalárias brasileiras estão representados no diagrama da Figura 5. Essa representação esquemática pode ser utilizada rotineiramente em laboratório, como modelo comparativo para identificação molecular de populações brasileiras de *Biomphalaria*.

Figura 5 – Representação esquemática dos padrões de restrição do ITS rDNA de dez espécies brasileiras de *Biomphalaria* e uma subespécie produzida com a enzima *Dde*I. A legenda mostra as abreviações de cada espécie. *B. glabrata* (Bg); *B. t. tenagophila* (Btt); *B. occidentalis* (Boc); *B. t. guaibensis* (Btg); *B. straminea* (Bs); *B. intermedia* (Bi); *B. kunhiana* (Bk); *B. peregrina* (Bp); *B. oligoza* (Bo); *B. schrammi* (Bsch) e *B. amazonica* (Ba). Marcadores de peso molecular são mostrados à esquerda do gel

Fonte: Vidigal et al. (2000a).

Tal metodologia foi empregada no estudo de moluscos da fauna venezuelana, em material previamente identificado como *B. straminea*, *B. prona* e *B. glabrata*. Foi demonstrado que o material identificado como *B. straminea*, pelos caracteres morfológicos, tratava-se na verdade de *B. kuhniana*, relatada pela primeira vez naquele país (Caldeira et al., 2000). As amostras de *B. prona* foram oriundas do lago de Valência e de outras localidades. Apesar de os exemplares dessas localidades apresentarem morfos distintos e colonizarem biótopos diferentes, a análise morfológica, os estudos de isoenzimas (Paraense et al., 1992) e os dados produzidos pela PCR-RFLP (Caldeira et al., 2000) demonstram que todos os exemplares de fato pertenciam a uma única espécie, *B. prona*, ficando estabelecido assim o padrão espécie-específico desta espécie (Figura 6, canaletas 17-28).

Figura 6 – Gel de poliacrilamida 6%, corado pela prata, mostrando o perfil de restrição da região ITS do rDNA com a enzima *Dde*I. As espécies de moluscos foram: *Biomphalaria glabrata:* canaleta 1: Belém (Pará, Brasil); 2: Esteio (Rio Grande do Sul, Brasil); 3-4 Villa de Cura, El Cortijo (Aragua, Venezuela); 5-6: Manuare (Carabobo, Venezuela); 7-8: Belén, Las Tinajitas (Carabobo, Venezuela); 9-10: Guacara (Carabobo, Venezuela); 11-12: Caripe, La Elvira Quebrada (Monagas, Venezuela); 13-14: Chabasquén (Portuguesa, Venezuela); 15-16: Anzoátequi. Valle Lindo la Rinconada (Lara, Venezuela). *B. prona*: canaletas 17- 18: Lago de Valencia, Pan de Azúcar, Club Bahia Paraíso (Aragua, Venezuela); 19-20: San Casimiro, El Loro Rio (Aragua, Venezuela); 21-22: Laguna del Parque Recreacional Sur de Valencia (Carabobo, Venezuela); 23-24: Canal La Pista, Tinaquillo (Cojedes, Venezuela); 25-26: Represa El Guamo (Monagas, Venezuela); 27-28: San Carlos (Cojedes, Venezuela). *B. straminea*: canaleta 29: Belém (Pará, Brasil); 30: Picos (Piauí, Brasil); 31: Florianópolis (Santa Catarina, Brasil). *B.kuhniana*: canaletas 32-33: San Casimiro, La Barquera Quebrata; 2: (Aragua, Venezuela); 34-35: Villa de Cura, El Cortijo (Aragua, Venezuela); 36-37: Pao de Zárate (Aragua, Venezuela); 38-39: Laguna del Parque Recreacional, Sur de Valencia (Carabobo, Venezuela); 40-41: Villa de Cura (Aragua, Venezuela); 42-43: Tucuruí (Pará, Brasil). Os números a esquerda correspondem ao padrão de peso molecular em pares de base (pb)

Fonte: Caldeira et al. (2000).

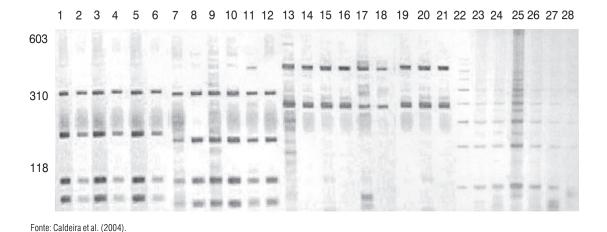
A PCR RFLP com a enzima *Dde*I mostrou-se, ainda, útil no estudo de uma população de *B. tenagophila* da reserva ecológica do Taim, estado do Rio Grande do Sul (Brasil). Esta população apresenta, além do perfil espécie-específico da espécie (fragmentos de 800 pb e 470 pb), um fragmento de 350 pb, que está sendo utilizado como seu marcador (Barbosa et al., 2006). Esta população tem-se mostrado resistente às diversas cepas de *S. mansoni* com as quais já foi desafiada, sendo assim considerada refratária ao trematódeo (Santos et al., 1979; Freitas, Boschi & Santos, 1985). Foi ainda demonstrado que esta banda de 350 pb tem caráter dominante, passando para descendentes após transplante de órgão hematopoético originário de *B. tenagophila* susceptível, podendo, desta forma, ser utilizada como um marcador (Rosa et al., 2004).

Apesar do sucesso obtido na utilização de técnicas de biologia molecular na separação das espécies do gênero *Biomphalaria*, permanecia uma lacuna no estudo desses moluscos. Em trabalhos de campo, rotineiramente é encontrada apenas a concha dos moluscos do gênero *Biomphalaria*, sem o corpo, impossibilitando a identificação e a detecção de *S. mansoni*. Além disso, encontram-se depositadas em coleções malacológicas diversas conchas que apresentam classificação duvidosa ou imprecisa. No intuito de solucionar essas questões, foi desenvolvida uma estratégia para extração de restos da parte mole (corpo) existentes no interior de conchas vazias. Foram utilizadas conchas depositadas na coleção do Centro de Pesquisa René Rachou desde 1992, concomitantemente com os DNA extraídos, naquela época, das respectivas partes moles dos moluscos. As conchas foram lavadas em água destilada e uma pequena perfuração foi feita próxima ao umbigo, em apenas um lado de cada concha. Em seguida, as conchas foram imersas em tampão de extração com proteinase k por cinco dias, a 37ºC. Após este período, as conchas foram retiradas, lavadas e devolvidas à coleção. A solução foi submetida à extração do DNA pelo método fenol-clorofórmio (Caldeira et al., 2004). Na Figura 7 podem ser observados os perfis específicos de *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea* obtidos a partir do DNA retirado das conchas, bem como do DNA extraído da parte mole dos respectivos moluscos, utilizando técnica de PCR-RFLP direcionada para região ITS2 do rDNA com a enzima *Hpa*II.

Outra variante da PCR, denominada PCR espécie-específica, foi utilizada para a separação de moluscos africanos pertencentes às espécies *B. glabrata*, *B. alexandrina* e possíveis híbridos dessas duas espécies encontradas no Egito (Lotfy et al., 2005). O DNA dos híbridos foi obtido pela mistura artificial do DNA de *B. glabrata* e *B. alexandrina*. Os iniciadores utilizados foram direcionados para a região ITS1 rDNA de *B. alexandrina*, ITS2 rDNA de *B. glabrata* e para a região mitocondrial ND1 de *B. alexandrina* e *B. glabrata*. As amplificações foram executadas em programas distintos. Foram obtidos amplicons de 316 pb do ITS1 rDNA para *B. alexandrina* e 361 pb do ITS2 rDNA para *B. glabrata*. Os iniciadores direcionados para a região ND1 produziram amplicons de 265 pb, independentemente da espécie; entretanto, somente o DNA dos híbridos na diluição 1:100 (0,565 ng/μl de *B. alexandrina*: 56,5 ng/μl de *B. glabrata*) foi amplificado.

A ocorrência de *B. tenagophila* no continente africano deu-se após seqüenciamento nucleotídico das regiões ITS1 e ITS2 do rDNA e da região 16S rDNA do DNA mitocondrial de moluscos originários da República Democrática do Congo (Pointier et al., 2005). As seqüências obtidas foram comparadas às de *Biomphalaria* disponíveis no GenBank, constatando-se identidade com os exemplares de *B. tenagophila*, independentemente da origem geográfica.

Figura 7 – Gel de poliacrilamida 6%, corado pela prata. Canaletas 1 até 21 mostram o perfil de restrição da região ITS2 do rDNA com a enzima *Hpa*II. As canaletas ímpares (1 até 17) correspondem aos perfis da região cefalopodal e as canaletas pares (2 até 18) aos perfis de vestígios de matéria orgânica presentes na concha. Canaletas 1-2: *Biomphalaria glabrata* de Carabobo, Venezuela (depositadas na coleção em 1993); 3-4: *B. glabrata* de Minas Gerais, Brasil (1997); 5-6: *B. glabrata* do Rio Grande do Sul, Brasil (1998); 7-8: *B. tenagophila* do Rio de Janeiro, Brasil (1993); 9-10: *B. tenagophila* de Santa Catarina, Brasil (1993); 11-12: *B. tenagophila* de Minas Gerais, Brasil (1997); 13-14: *B. straminea* do Pará, Brasil (1993); 15-16: *B. straminea* do Rio Grande do Sul, Brasil (1993); 17-18: *B. straminea* de Pernambuco, Brasil (1997); 19-21: mostram o perfil de vestígios de matéria orgânica do interior da concha *B. straminea* de Minas Gerais (Brasil), coletadas aleatoriamente do campo em 2002; 22-28: mostram o perfil de *Schistosoma mansoni* obtido pela LS-PCR. Canaleta 22: perfil de verme adulto; 23-25: perfil de *Schistosoma mansoni* recuperado de vestígios de matéria orgânica do interior da concha de *B. glabrata* infectada que ficou em decomposição em temperatura ambiente por 7 semanas; 26-28: mesma legenda da anterior, porém com 8 semanas de decomposição. Os números à esquerda correspondem ao padrão de peso molecular em pares de base (pb)

Fonte: Caldeira et al. (2004).

Variabilidade Genética

A análise de similaridades ou diferenças exibidas pelas bandas geradas após eletroforese de isoenzimas permite-nos compreender parte da variabilidade genética das populações. Esta técnica pode ser uma ferramenta útil no estudo da variabilidade genética de vários organismos, por serem facilmente identificadas, em decorrência da especificidade dos seus substratos. Como as diferenças moleculares estão quase sempre associadas a diferentes cargas elétricas, formas, tamanhos e pesos moleculares, algumas enzimas podem ser analisadas por eletroforese. A eletroforese de enzimas permite que muitas amostras e caracteres sejam comparados rápida e facilmente, uma vez que cada enzima pode definir um caráter separado (Romanha, 1982). As enzimas podem ser úteis na elucidação de problemas relacionados à sistemática de vários grupos de organismos e nos estudos da variabilidade genética de populações (Avise, 1994).

Os trabalhos pioneiros no estudo de isoenzimas em moluscos analisaram perfis enzimáticos de populações de *Bulinus* e *Biomphalaria*, descrevendo variações no padrão da fosfatase ácida e esterases nos diferentes órgãos estudados (Wright, File & Ross, 1966). A quantificação de polimorfismos de esterases

em populações de *B. glabrata*, obtidas de laboratório, revelou que as isoenzimas podem ser utilizadas para obter informações sobre a estrutura genética e fornecer marcadores para os planorbídeos analisados (Bair & Etges, 1973).

Estudos utilizando esterases de *B. glabrata* demonstraram número variável de bandas em diferentes órgãos (12 no músculo columelar, até 22 na glândula digestiva), distribuídas em quatro zonas de atividade enzimática. Esta técnica permitiu identificar variabilidade intraespecífica e polimorfismos entre as populações de *B. glabrata* do estado de Goiás (Narang & Narang, 1976). Analisou-se, ainda, o grau de polimorfismo de populações de *B. glabrata* com relação a 25 *loci* gênicos, na qual foi possível detectar polimorfismo, variando de 7,6% a 21,1%, além de se identificar a presença de alelos capazes de funcionar como marcadores populacionais (Narang et al., 1981).

Análises de isoenzimas demonstraram também a existência de diferenças bioquímicas entre populações de moluscos definidos como geneticamente resistentes e susceptíveis (Mulvey & Woodruff, 1985). Essas diferenças na susceptibilidade podem explicar o fato relatado por Woolhouse & Chandiawana (1989), com base em populações naturais de moluscos, de que a prevalência de *S. mansoni* é variável no tempo e no espaço. A técnica de isoenzimas também tem sido utilizada na determinação dos níveis de variabilidade genética, demonstrando a existência de um alto nível de polimorfismo intraespecífico entre amostras de *B. glabrata* mantidas em laboratório de diferentes localidades (Brasil, Saint Lucia, Porto Rico, República Dominicana) (Mulvey & Vrijenhoek, 1981). Este fenômeno foi também observado em populações de *B. glabrata* coletadas em diferentes localidades de Porto Rico. De fato, foi verificado que quatro (15%) dos 26 *loci* pesquisados apresentaram-se polimórficos. Foi possível ainda observar uma baixa variabilidade intrapopulacional e alta variabilidade interpopulacional. Sugeriu-se que a deriva genética e o baixo fluxo gênico poderiam contribuir para a distribuição diferenciada de susceptibilidade entre as populações de *B. glabrata* (Mulvey & Vrijenhoek, 1982). Por outro lado, estudos utilizando isoenzimas com populações da República Dominicana demonstraram que essas populações são homogêneas (Mulvey, Newman & Woodruff, 1988).

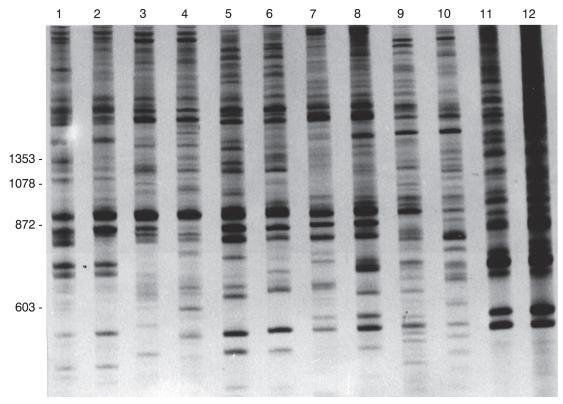
Estudos para determinar o coeficiente de variação genética em populações de moluscos geograficamente isoladas foram realizados utilizando populações de *B. tenagophila* do estado de São Paulo. O polimorfismo de nove populações manifestou-se em sete dos 15 *loci* analisados e não mostrou relação com a distribuição geográfica (Mascara & Morgante, 1991).

Em outro estudo utilizando *B. glabrata*, foram utilizadas dez isoenzimas descritas na literatura como polimórficas, das quais sete apresentaram perfis definidos e de fácil visualização. Das sete enzimas, somente duas foram polimórficas para três das oito populações, e as demais foram monomórficas. Foi observada uma homogeneidade intrapopulacional e polimorfismos interpopulacionais, além de não ter sido encontradas diferenças entre cepas de laboratório e de campo (Campos, 2001).

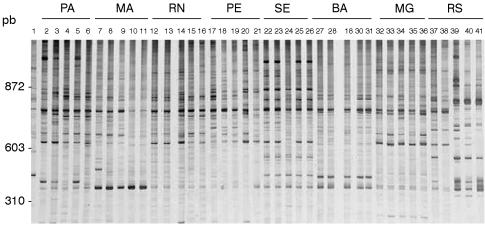
Outra abordagem molecular é a RFLP, muito utilizada na detecção de polimorfismos de DNA da década de 1980 até o início da década de 1990. A existência de polimorfismos em populações de *B. glabrata* resistentes e susceptíveis a *S. mansoni* foi demonstrada com o uso de várias enzimas de restrição e uma sonda para o gene de rRNA de *S. mansoni* (Knight et al., 1991). Uma parte do gene do produto da glândula de albúmem (pBS11) altamente expresso em *B. glabrata* resistente foi utilizado como sonda em uma análise de *Southern blot* que revelou a presença de padrões de RFLPs distintos entre as linhagens de *B. glabrata* resistentes e susceptíveis, quando as enzimas *BamH*I e *Eco R*I foram empregadas (Miller et al., 1996).

A utilização de variantes da PCR permitiu consideráveis avanços nos estudos de variabilidade genética de *Biomphalaria*. A PCR utilizando iniciadores arbitrários (AP-PCR) permite a amplificação de segmentos anônimos do DNA que não têm uma correlação obrigatória com regiões transcritas ou não transcritas, repetitivas ou não, variáveis ou conservadas. Em virtude disso, os padrões de bandeamento refletem a constituição geral do genoma, permitindo estimar a semelhança genética, entre os organismos, sem tendenciosidade.

O estudo pioneiro com AP-PCR foi realizado para estimar a variabilidade intra e interpopulacional de *B. glabrata* de diferentes localidades do Brasil. A comparação entre espécimes de duas diferentes populações de campo demonstrou uma limitada heterogeneidade intrapopulacional, em contraste com a alta heterogeneidade interpopulacional. Esses resultados sugerem existir uma homogeneidade entre os exemplares de uma mesma população de *B. glabrata*, enquanto as populações exibem entre si uma alta heterogeneidade. Moluscos criados e mantidos em laboratório por diferentes períodos de tempo foram também analisados, não sendo possível observar diferenças nos níveis de variabilidade intrapopulacional, quando comparados com populações de campo (Figura 8) (Vidigal et al., 1994).

Figura 8 – Gel de poliacrilamida 4%, corado pela prata, mostrando os perfis de AP-PCR obtidos com o iniciador 3307 de vinte exemplares de *Biomphalaria glabrata*. Canaletas 1-2: de Belém, Pará (Brasil); 3-4: de Cururupu, Maranhão (Brasil); 5-6: de Touros, Rio Grande do Norte (Brasil); 7-8: de Pontezinha, Pernambuco (Brasil); 9-10: de Aracaju, Sergipe (Brasil); 11-12: de Jacobina, Bahia (Brasil). Marcadores de peso molecular são mostrados à esquerda do gel

Fonte: Vidigal et al. (1994).

Diferenças entre linhagens de *B. glabrata* resistentes e susceptíveis, com a técnica de Rapd, foram observadas quando dois dos vinte marcadores utilizados foram reprodutíveis, estáveis e hereditários (Knight et al., 1999). Estudos semelhantes foram realizados com *B. tenagophila* susceptíveis e resistentes a *S. mansoni*, demonstrando a existência de variações genéticas entre duas linhagens daquele molusco (Abdel-Hamid et al., 1999). A variabilidade genética de *B. glabrata* foi estudada em uma área circunscrita a 45 km^2 da ilha de Guadalupe, observando-se a existência de uma alta variabilidade genética, demonstrando uma correlação entre distância genética e distância geográfica, o que evidencia a relação existente entre dispersão dos moluscos e variabilidade genética (Langand et al., 1999). Em estudos utilizando Rapd realizados com oito populações brasileiras de *B. glabrata*, a variabilidade genética interpopulacional foi tão alta que em 36 bandas não foi possível identificar sequer uma banda compartilhada pelos quarenta exemplares das oito populações (Figura 9). Além disso, as populações utilizadas nesse estudo e os baixos valores de *bootstrap* encontrados nos ramos que agrupam as diferentes populações não permitiram traçar nenhuma relação entre origem geográfica e distância genética (Campos, 2001).

Figura 9 – Gel de poliacrilamida 6%, corado pela prata, mostrando os perfis de AP-PCR de diferentes populações *Biomphalaria* utilizando o iniciador 3307. Canaleta 1: *B. tenagophila* de Florianópolis, Santa Catarina (Brasil); 2-6: *B. glabrata* de Belém, Pará (Brasil); 7-11: *B. glabrata* de Cururupu, Maranhão (Brasil); 12-16: *B. glabrata* de Touros, Rio Grande do Norte (Brasil); 17-21: *B. glabrata* de Cabo, Pernambuco (Brasil); 22-26: *B. glabrata* de Aracaju, Sergipe (Brasil); 27-31: *B. glabrata* de Jacobina, Bahia (Brasil); 32-36: *B. glabrata* de Betim, Minas Gerais (Brasil); 37-41: *B. glabrata* de Esteio, Rio Grande do Sul (Brasil). Os números à esquerda correspondem ao padrão de peso molecular em pares de base (pb)

Fonte: Campos (2001).

A análise de Rapd foi usada para estudar a diversidade genética entre duas cepas, resistentes e susceptíveis a *S. mansoni*, de *B. glabrata*, mantidas em laboratório. DNA de dez indivíduos de cada cepa foram submetidos ao Rapd com 16 iniciadores aleatórios. Nenhum polimorfismo foi detectado na cepa resistente, enquanto houve uma considerável variabilidade na cepa susceptível com 13 iniciadores. A partir dessa variação foi possível separar esta cepa em três tipos distintos (tipos 1, 2 e 3). Em seguida, outros dez indivíduos susceptíveis foram escolhidos aleatoriamente e observou-se a presença de 45% dos tipos 1 e 2 e apenas 10% do tipo 3 (Ittiprasert et al., 2003).

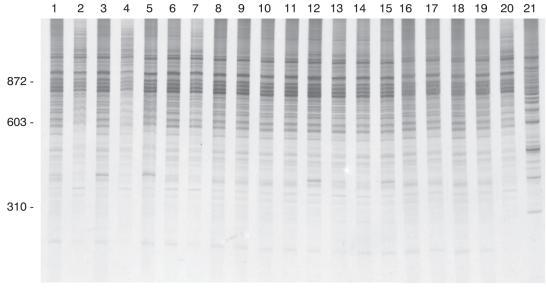
A utilização do Rapd no estudo de cepas de *B. tenagophila* e *B. glabrata* susceptíveis e resistentes a *S. mansoni* vem sendo empregada com sucesso para detecção de fragmentos exclusivos para essas cepas, facilitando assim o monitoramento dessas características (Spada et al., 2002; Da Silva et al., 2004).

O microssatélite (MS) é outro excelente marcador genético por causa de sua prevalência no genoma dos eucariotos, facilidade de amplificação pela PCR e alto grau de polimorfismo. O isolamento e caracterização dos primeiros *loci* de microssatélites de *B. glabrata* demonstraram divergência entre cepas resistentes e susceptíveis a *S. mansoni*. Além disso, os marcadores de microssatélite podem contribuir para elucidar as relações evolucionárias entre as espécies de *Biomphalaria* africanas e neotropicais. De fato, *B. pfeifferi* mostrou-se mais polimórfica do que as espécies neotropicais *B. straminea*, *B. occidentalis* e *B. tenagophila* (Jones et al., 1999). Nove *loci* de microssatélites foram caracterizados em populações de *B. glabrata* da Venezuela e detectou-se pelo menos oito *loci* adequados para estudos da estrutura populacional, sistema de reprodução e estudos de resistência (Mavarez et al., 2000). Sete *loci* de microssatélites altamente polimórficos foram utilizados para o estudo da diversidade genética de *B. glabrata* do lago de Valência, que representa um importante foco da esquistossomose mansoni na Venezuela. Foram utilizadas amostras de distâncias pequenas (poucos quilômetros) de pontos de dentro e de fora do lago. Com os marcadores de microssatélite foi possível observar que aquela população se reproduz essencialmente por fecundação cruzada e que há, ali, uma considerável variação genética, com uma taxa de heterozigose de 60%. Maior diversidade foi encontrada nas populações de dentro do lago, sugerindo uma influência de comunicação entre populações em um nível de diversidade genética (Mavarez et al., 2002).

A associação de duas técnicas, microssatélite e Rapd, foi utilizada no estudo da variabilidade genética de populações brasileiras de *B. glabrata*, coletadas diretamente do campo, em uma área endêmica para a esquistossomose. Foram usados sessenta pares iniciadores para microssatélites e 19 iniciadores aleatórios para Rapd. Independente do método, a diversidade genética pôde ser prontamente observada (Rowe et al., 2003).

Outra abordagem da PCR aplicada ao estudo de *Biomphalaria* foi a técnica de SSR-PCR, devido à aplicabilidade e à qualidade dos resultados. Esta técnica foi padronizada utilizando os iniciadores (CA)8RY e K7 (CAACTCTCTCTCTCT) para o estudo da variabilidade genética de populações brasileiras de *B. straminea, B. intermedia* e *B. kuhniana*. A partir dos perfis de bandas de fácil visualização, gerados com cada iniciador, foi construída uma matriz táxon/caractere. A distância genética foi calculada com o método de Nei & Li (1979) e agrupados pelo método de *neighbor-joining* e utilizados para construção de árvore de distância genética. O percentual médio de bandas compartilhadas foi calculado por meio do coeficiente de similaridade de Dice (1945) e marcado no dendrograma como linha de *Fenon*. Estes dados foram agrupados no UPGMA (Sneath & Sokal, 1962) e usados para a construção de dendrogramas de similaridade. A validação dos dendrogramas foi feita pelo método de *bootstrap* (Felsenstein, 1985), com mil reamostragens. As árvores geradas por ambos os métodos mostraram topologias similares. Foi observado que os indivíduos mais relacionados pertencem à mesma espécie e localidade, e que os indivíduos de diferentes localidades, mas da mesma espécie, apresentam uma clara heterogeneidade. Houve uma homogeneidade intrapopulacional em *B. kuhniana*, em contraste com *B. straminea* (Figura 10) e *B. intermedia*, que apresentaram heterogeneidade intrapopulacional (Caldeira et al., 2001). Em seguida, essa técnica foi empregada no estudo da variabilidade genética de populações brasileiras de

B. glabrata. Vinte exemplares de oito localidades distintas e distantes foram analisadas. Os fragmentos do gel foram utilizados para o estudo intra e interpopulacional, observando-se uma maior variabilidade genética interpopulacional. Moluscos do campo e do laboratório não apresentaram nenhuma diferença genética (Campos, 2002).

Figura 10 – Gel de poliacrilamida 6%, corado pela prata, mostrando os perfis de amplificação obtidos com a reação em cadeia da polimerase ancorada a repetições de seqüências (SSR-PCR) com o iniciador K7 de vinte exemplares de *Biomphalaria kuhniana*. Canaletas 1 a 20: exemplares de Tucuruí (Pará, Brasil) e um *outgroup*, *B. glabrata* canaleta 21 de Esteio (Rio Grande do Sul, Brasil). Marcadores de peso molecular são mostrados à esquerda do gel

Fonte: Caldeira et al. (2001).

Filogenia

Os estudos filogenéticos têm o papel de organizar o conhecimento sobre a diversidade biológica a partir das relações de parentesco entre grupos, além de possibilitar o conhecimento da evolução das características morfológicas, comportamentais, ecológicas, fisiológicas, citogenéticas e moleculares de um determinado grupo. Neste tipo de estudo é imprescindível o conhecimento sobre o passado (fósseis) e o presente do organismo. Poucos estudos filogenéticos têm sido realizados para moluscos do gênero *Biomphalaria*; sabe-se que os registros geológicos mais antigos da família Planorbidae comprovam sua presença na Europa e nos Estados Unidos desde o período Jurássico (160 milhões de anos). Além disso, as conchas do Jurássico não apresentam diferenças visíveis quando comparadas com as de registros anteriores, evidenciando que esses moluscos devem ter existido em períodos mais antigos como o Triássico e o Carbonífero (200 a 300 milhões de anos) (Baker, 1945).

Estudos utilizando isoenzimas foram realizados para compreensão das relações filogenéticas entre sete espécies de moluscos neotropicais (*B. glabrata*, *B. amazonica*, *B. straminea*, *B. tenagophila*, *B. obstructa*, *B. peregrina* e *B. intermedia*) e quatro africanas (*B. alexandrina, B. choanomphala, B. pfeifferi* e *B. sudanica*).

Este estudo demonstrou que *B. glabrata* do Brasil e da República Dominicana mostraram-se mais relacionadas às espécies africanas do que às espécies neotropicais (Bandoni, Mulvey & Locker, 1995). Estudo semelhante com esta mesma técnica utilizando outras populações de *Biomphalaria* da África (*B. pfeifferi*, *B. sudanica* e *B. alexandrina*) e da Região Neotropical (*B. havanensis, B. straminea, B. tenagophila, B. occidentalis* e *B. glabrata*), também mostraram que as populações de *B. glabrata* estavam mais relacionadas às espécies africanas do que às outras espécies neotropicais (Woodruff & Mulvey, 1997).

Outra técnica molecular de grande importância é o seqüenciamento de todo ou parte do DNA de moluscos. A possibilidade de conhecer as bases nitrogenadas que compõem os seres vivos contribui para uma série de estudos. Para estudos de reconstrução filogenética nenhuma outra técnica molecular é mais informativa que o seqüenciamento nucleotídico. Pela sua fidedignidade, essa metodologia tem sido a mais utilizada na atualidade, para a inferência da história filogenética dos organismos. De fato, a grande afinidade de *B. glabrata* neotropical com as espécies africanas do mesmo gênero foram mais uma vez confirmadas utilizando dados do seqüenciamento do gene do DNA mitocondrial, subunidade I da citocromo oxidase (COI), e da região do ITS1 do rDNA (Campbell et al., 2000). Três hipóteses foram sugeridas pelos autores para explicar esse estreito relacionamento. A primeira hipótese admite que, antes da separação dos continentes, *B. glabrata* teria habitado a região correspondente à América, enquanto *B. pfeifferi*, *B. sudanica* e *B. alexandrina* habitavam a região correspondente à África. Com a separação dos continentes americano e africano, há cerca de 95,1 milhões de anos, *B. glabrata* permaneceu na região americana e as demais espécies na região africana, o que explica o parentesco com *B. glabrata*. A segunda hipótese sugere que um ancestral de *Biomphalaria* dispersou cruzando o oceano Atlântico para a África e diferenciando-se em *B. pfeifferi*, *B. sudanica* e *B. alexandrina*, que são de época posterior (Plio-Pleistoceno, aproximadamente 1,8 a 3,6 milhões de anos) à espécie americana (Van Damme, 1984). A terceira hipótese sustenta que a espécie ancestral de *B. glabrata*, originária do continente americano, atravessou o oceano Atlântico para o continente africano diferenciando-se, posteriormente, na época Plio-Pleistoceno, em *B. pfeifferi*, *B. sudanica* e *B. alexandrina* e em proto-*B. glabrata*. Esta última espécie teria retornado para as Américas, há quinhentos anos, nos barris de água trazidos com os escravos africanos. Em seguida, proto-*B. glabrata* transportada para o continente americano diferenciou-se, originando *B. glabrata* atual. A segunda hipótese estaria mais de acordo com os dados obtidos por Campbell et al. (2000).

Nos últimos anos o lócus do gene do RNA ribossomal de eucariotos tem demonstrado muita utilidade para a reconstrução filogenética. Como resultado, a comparação de seqüências dos espaçadores transcritos internos um e dois (ITS1 e ITS2) tem sido utilizada para estudos de reconstrução filogenética de espécies estreitamente relacionadas de vários organismos. As seqüências nucleotídicas do ITS1 foram utilizadas para estudar as relações filogenéticas de diferentes gêneros de moluscos: *Isabellaria, Albinaria*, *Bulinus* e *Stagnicola* (Schilthuizen, Gittenberger & Gultyaev, 1995; Stothard, Hughes & Rollinson, 1996; Remigio & Blair, 1997).

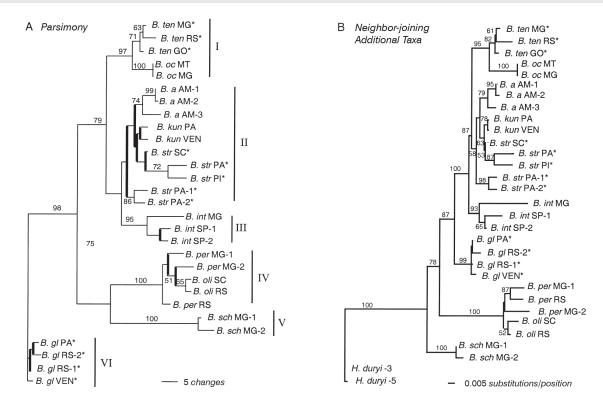
As relações filogenéticas entre diversas populações brasileiras de *Biomphalaria* (Tabela 3) foram estudadas a partir de análise das seqüências nucleotídicas da região ITS2. O alinhamento de seqüências múltiplas revelou um substancial grau de variação entre moluscos de diferentes espécies com substituições, inserções e deleções. Entretanto, a variação de seqüência entre os moluscos da mesma espécie, coletados de diferentes localidades, foi mínima. A menor região do ITS2 foi de *B. intermedia* (B.intSP-1) com 376 pb, seguida de *B. schrammi* (B.schMG-2) e *B. peregrina* (B.perMG-2) com 466 pb, enquanto *Helisoma duryi*, utilizada como grupo externo de comparação, foi de 552 pb e 565 pb. A análise filogenética das seqüências

do ITS2 foi feita com três diferentes métodos de reconstrução filogenética: distância (NJ), máxima parcimônia (MP) e máxima verossimilhança (ML), que geraram árvores muito similares (Figuras 11A, 11B). As espécies *B. schrammi*, *B. peregrina* e *B. oligoza* formaram o grupo mais distante, corroborando com a morfologia desses três moluscos (Vidigal et al., 2000b).

Tabela 3 – Espécies, origem, coordenadas geográficas, abreviações e número de acesso ao GenBank das populações de moluscos estudadas

Espécies	Exemplares	Origem	Coordenadas geográficas	Abreviações	Número de acesso ao GenBank
Biomphalaria glabrata	01	Belém, PA, Brasil	01s27/48w30	B.glPA	AF198659
	02	Esteio, RS, Brasil	29s51/51w10	B.glRS-1	AF198661
				B.glRS-2	AF198660
B. tenagophila	01	Portuguesa, Chabasquen, Venezuela	19s41/43w55	B.glVEN	AF198662
	01	Vespasiano, MG, Brasil	29s58/50w07	B.tenMG	AF198654
	01	Imbé, RS, Brasil *	15s32/47w20	B.tenRS	AF198655
	01	Formosa, GO, Brasil *		B.tenGO	AF198656
B. straminea	01	Picos, PI, Brasil *	07s04/41w28	B.strPI	AF198672
	02	Porto Alegre, RS, Brasil *	29s58/51w17	B.strPA-1	AF198669
				B.strPA-2	AF198670
	01	Florianópolis, SC, Brasil	27s35/48w32	B.strSC	AF198668
	01	Belém, PA, Brasil	01s27/48w30	B.str PA	AF198671
B. intermedia	01	Jales, SP, Brasil	20s16/50w32	B.int SP-1	AF198674
	01	Pindorama, SP, Brasil	21s11/48w54	B.int SP-2	AF198675
	01	Itapagipe, MG, Brasil	19s54/49w22	B int MG	AF198673
B. peregrina	01	Alfenas, MG, Brasil	21s25/45w56	B.per MG-1	AF198676
	01	Taim, RS, Brasil	32s29/52w34	B.per RS	AF198677
	01	Bom Jesus da Penha, MG, Brasil	21s01/46w31	B.perMG-2	AF198678
B. schrammi	02	Ilicínea, MG, Brasil	20s56/45w49	B.schMG-1	AF198681
				B.schMG-2	AF198682
B. kuhniana	01	Tucuruí, PA, Brasil	03s46/49w40	B.kun PA	AF198666
	01	Aragua, Villa de Cura, Venezuela		B.kun VEN	AF198667
B. occidentalis	01	Capetinga, MG, Brasil	20s36/47w03	B.ocMG	AF198658
	01	Campo Grande, MS, Brasil *	20s26/54w38	B.ocMT	AF198657
B. oligoza	01	Eldorado do Sul, RS, Brasil	30s05/51w36	B.oliRS	AF198680
	01	Florianópolis, SC, Brasil	27s35/48w32	B.oli SC	AF198679
B. amazonica	02	Benjamin Constant, AM, Brasil	04s22/70w01	B.aAM-1	AF198663
				B.aAM-2	AF198664
	01	Barão de Melgaço, MT, Brasil *	16s13/55w58	B.a MT-1	AF198665
Helisoma duryi	02	Uberaba, MG, Brasil	19s45/47w56	H.duryi-3	AF267503
				H.duryi-5	AF267504

* Populações de laboratório.

Figura 11 – Árvores resultantes da análise filogenética das seqüências da região do ITS2. As abreviações das espécies encontram-se na Tabela 3. Valores de *Bootstrap* acima de 50% estão listados acima dos ramos. A barra de escala encontra-se na base da árvore. Nome das espécies seguidas de asterisco indica os hospedeiros intermediários de *Schistosoma mansoni*. Números romanos (I - VI) mostrados em (A) definem os maiores grupos encontrados em todas as árvores. (A) Árvore filogenética baseada em parcimônia máxima (MP), barras verticais em negrito representam bifurcações ausentes nas 1274 árvores parciomosiosas produzidas; (B) Árvore filogenética baseada no método de *neighbor-joining* utilizando *Helisoma* como grupo externo

Fonte: Vidigal et al. (2000b).

Genoma de *Biomphalaria glabrata*

O rápido progresso no desenvolvimento de métodos de seqüenciamento e análise de dados e a falta de informação sobre a genética da maioria dos organismos têm impulsionado a elaboração de vários projetos de genoma. Recentemente, foi concluído o chamado genoma Malária (homem, *Plasmodium* e *Anopheles*), com informações antes escondidas no genoma, que podem ser empregadas no desenvolvimento de novos inseticidas, repelentes e medicamentos. À semelhança desses estudos, desenvolve-se agora o projeto de genoma da esquistossomose. O seqüenciamento genômico de *S. mansoni* está em fase final e o do seu principal hospedeiro intermediário, *B. glabrata*, encontra-se em andamento.

Os exemplares utilizados para o seqüenciamento foram oriundos de Belo Horizonte, Minas Gerais (Brasil). Os moluscos foram identificados morfológica e molecularmente como *B. glabrata*. O tamanho estimado para o genoma de *B. glabrata* foi calculado em 981 Mb (Gregory, 2003). O DNA utilizado para o

seqüenciamento foi extraído da região cefalopodal (incluindo o pé e a cabeça) de seis exemplares do molusco. Empregou-se o DNA genômico obtido para construção de bibliotecas tipo BAC (cromossomo artificial de bactéria). Essas bibliotecas possuem um inserto de 136 Kb com cobertura de 9,1 vezes o tamanho do genoma (Adema, 2005). Por outro lado, o genoma mitocondrial de *B. glabrata*, com 13.670 nucleotídeos (DeJong, Emery & Adema, 2004) e o de *B. tenagophila,* com 13.722 (Jannotti-Passos, 2007), são constituídos por uma molécula circular contendo 13 genes que codificam proteínas, dois genes do RNA ribossomal (12S e 16S) e 22 genes do RNA transportador.

Detecção de Moluscos Infectados com *S. mansoni*

O diagnóstico de infecção por *S. mansoni* em *Biomphalaria* é feito rotineiramente pela exposição dos moluscos à luz (artificial) e identificação de cercárias. O exame pode ainda ser feito por esmagamento dos moluscos entre placas de vidro. Neste caso, além das cercárias, pode-se também observar a presença de esporocistos, principalmente se estes estiverem localizados na glândula digestiva.

Quando os esporocistos são jovens e estão localizados na região cefalopodal, ou quando os moluscos capturados no campo vêm infectados com formas jovens de diferentes trematódeos (Loker et al., 1982), é impossível se fazer diagnóstico com aqueles dois métodos tradicionais. Outra dificuldade no diagnóstico da infecção ocorre quando moluscos coletados no campo, devido à distância do local de captura, chegam mortos ao laboratório, tornando-se impossível determinar a infecção, seja por *S. mansoni* ou por qualquer outro tipo de trematódeo. Em decorrência dessas dificuldades, técnicas moleculares devem ser utilizadas para auxiliar no diagnóstico de infecção de moluscos.

A técnica de Elisa foi utilizada para detectar antígenos de *Schistosoma* em hemolinfa de moluscos, mediante a aplicação de anticorpos monoclonais (Hamburger et al., 1989). O teste conseguiu:

- diferenciar moluscos infectados com *S. mansoni* de moluscos não infectados;
- detectar a presença de esporocistos desse parasito na segunda semana após a infecção;
- diferenciar *S. mansoni* de outros trematódeos.

Entretanto, não foi possível diferenciar espécies de *Schistosoma* com os quais os moluscos encontravam-se infectados, pois os anticorpos monoclonais identificavam grupo específico e não espécie específica. Esse estudo foi realizado com moluscos do Quênia, África, onde existem outras espécies de *Schistosoma*, e o teste não diferenciou *S. mansoni* de *S. haematobium.* Posteriormente, a técnica de *dot* hibridização, usando uma sonda de DNA repetitivo, conseguiu detectar a presença de *S. mansoni* em moluscos (Hamburger et al., 1992). Com esta técnica, foi possível detectar a presença de *S. mansoni* na primeira semana após a infecção, diferenciar *S. mansoni* de outros trematódeos e diferenciar espécies de *Schistosoma*. Entretanto, apesar dos resultados promissores, essa metodologia tem como desvantagens o longo tempo necessário para execução e a utilização de material radioativo.

Com o desenvolvimento da reação da cadeia da polimerase foi possível um grande avanço no diagnóstico da infecção em moluscos. De fato, utilizando a *nested* PCR foi possível detectar a presença de *S. mansoni* em *B. glabrata* com um dia de exposição e diferenciar *S. mansoni* de outros dois trematódeos (Hanelt et al., 1997). Essa metodologia baseia-se em duas reações de PCR, com pares de iniciadores específicos para a região 18S do rDNA de *S. mansoni*. O primeiro par flanqueia uma região mais externa do rDNA, e o outro uma região interna à região já flanqueada na primeira PCR, tornando-a assim mais sensível. Essa técnica demanda mais

trabalho e tempo, tendo ainda como desvantagem a falta de um controle interno da reação, não definindo se o resultado negativo corresponde à ausência de infecção ou à ausência de produto amplificado na PCR devido a problemas na reação. Em uma outra metodologia, a PCR em baixa estringência (LS-PCR), o uso de iniciadores específicos (ER-5' ACCTACCGTACTATGACG e EF-5' GGTTTCTTAGTGTTATAGCC) amplificou uma região repetitiva em *tandem* do mtDNA de *S. mansoni* (Figura 12). Com isso se conseguiu detectar infecção no período pré-patente (Figura 13), diferenciar *S. mansoni* de outros trematódeos (Figura 14) e detectar infecção em moluscos mortos (Figura 15) (Jannotti-Passos et al., 1997; Jannotti-Passos, 1998; Jannotti-Passos & Souza, 2000). A sensibilidade desse experimento mostrou que o limite de detecção do DNA do parasito no molusco foi de 1 pg.

Figura 12 – Desenho esquemático da região do DNA mitocondrial de *Schistosoma mansoni* amplificada pelos iniciadores ER e EF: dois fragmentos de 558 pb intercalados por dois fragmentos de 62pb arranjados em *tandem*

Fonte: Jannotti-Passos (1998).

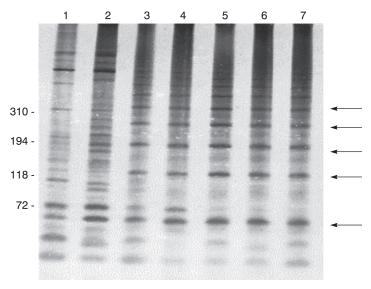
Figura 13 – Gel de poliacrilamida 6%, corado pela prata, mostrando os produtos de LS-PCR obtidos com os iniciadores ER e EF dos seguintes exemplares: canaletas 1-2: *B. glabrata* não infectada, 3: *B.glabrata* eliminando cercárias de *S. mansoni,* 4: *B. glabrata* infectada com *Schistosoma mansoni* (sete dias após infecção), 5: *B. glabrata* infectada com *Schistosoma mansoni* (14 dias após infecção), 6: *B. glabrata* infectada com *Schistosoma mansoni* (28 dias após infecção), 7: cercária de *Schistosoma mansoni.* Ao lado esquerdo do gel está representado o padrão de peso molecular. As setas indicam os fragmentos característicos do mtDNA de *Schistosoma mansoni*

Fonte: Jannotti-Passos et al. (1997).

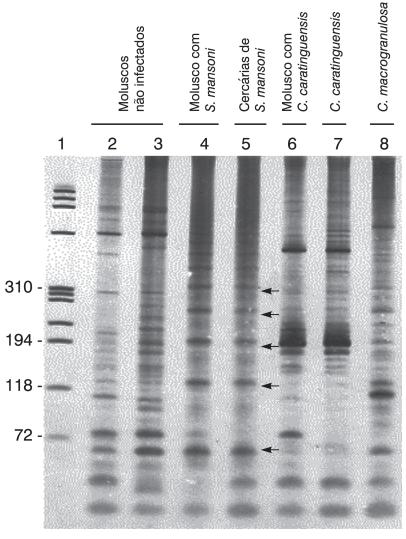
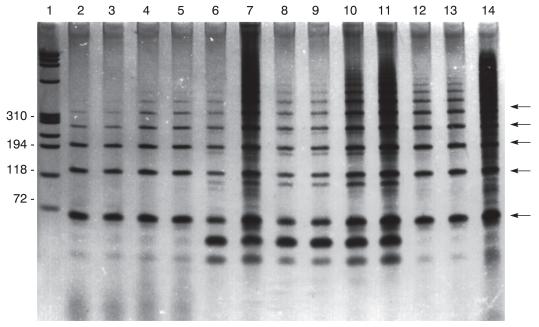
Figura 14 – Gel de poliacrilamida 6%, corado pela prata, mostrando os produtos de LS-PCR obtidos com os iniciadores ER e EF dos seguintes exemplares: canaletas 2-3: *B. glabrata* não infectadas, 4: *B. glabrata* eliminando cercária de *Schistosoma mansoni*, 5: cercária de *Schistosoma mansoni*, 6: *B. glabrata* eliminando *Cercaria caratinguensis*, 7: *Cercaria caratinguensis*, 8: *Cercaria macrogranulosa*. A canaleta 1 está representando o padrão de peso molecular. As setas indicam os fragmentos característicos do mtDNA de *Schistosoma mansoni*

Fonte: Jannotti-Passos et al. (1997).

Figura 15 – Gel de poliacrilamida 6%, corado pela prata, mostrando os produtos de amplificação do DNA de *B. glabrata* morta infectada com a cepa LE, obtidos com os iniciadores ER e EF através da LS-PCR. Nas canaletas 2-5 estão representadas as amplificações do DNA de *B. glabrata* infectada com *Schistosoma mansoni*, morta há 24 horas, nas de 6-9 *B. glabrata* infectada com *Schistosoma mansoni*, morta há 48 horas, nas de 10-13 *B. glabrata* infectada com *Schistosoma mansoni*, morta há 72 horas e na 14 o perfil do DNA de cercárias de *Schistosoma mansoni.* Na canaleta 1 está representado o padrão de peso molecular. As setas ao lado indicam os fragmentos característicos do mtDNA de *Schistosoma mansoni*

Fonte: Jannotti-Passos (1998).

Uma outra abordagem da PCR, a multiplex-PCR, foi utilizada também no diagnóstico de infecção de *S. mansoni* em *Biomphalaria*. Com essa técnica foi possível detectar infecção no período pré-patente, detectar infecção em *B. glabrata* morta há 24 horas (Figura 16) e diferenciar *S. mansoni* de dois outros trematódeos (*C. caratinguensis* e *C. macrogranulosa*) (Figura 17). Na reação utilizaram-se, simultaneamente, dois pares de iniciadores, em condições normais de estringência de anelamento, tendo como vantagem a detecção de DNA de duas origens diferentes em uma única reação, sendo que cada par de iniciador foi específico para um determinado organismo. Os iniciadores escolhidos foram: um par de iniciadores (54R- 5' AAACTTAAAGGAATTGACGG, ET1- 5' GCTCAGACACTACGGGAAT) que amplificou o gene 18S do rDNA, conservado nas duas espécies (molusco e trematódeo) e um outro par de iniciadores (ER-5' ACCTACCGTACTATGACG e EF-5' GGTTTCTTAGTGTTATAGCC) que amplificou, especificamente, o mtDNA de *S. mansoni.* Essa reação economizou tempo de execução, uma vez que os pares de iniciadores são utilizados simultaneamente (Jannotti-Passos et al., 1997). Entretanto, os iniciadores utilizados não foram capazes de identificar a espécie de molusco envolvida na reação.

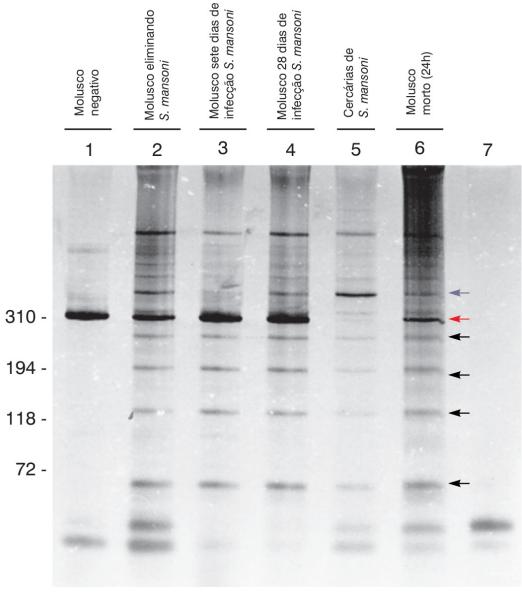
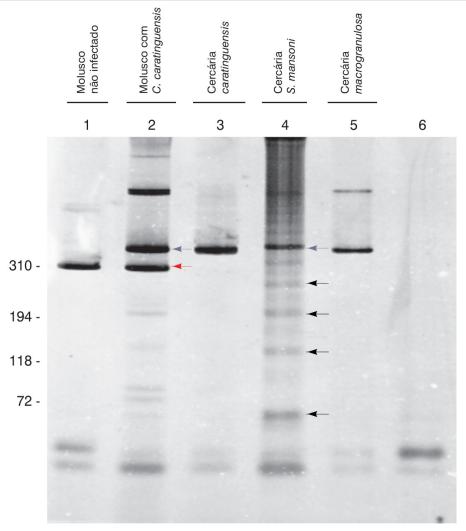
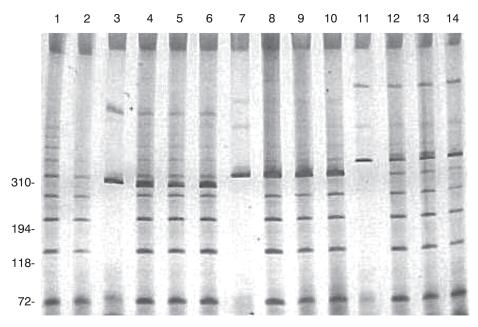
Figura 16 – Gel de poliacrilamida 6%, corado pela prata, mostrando os produtos de Multiplex-PCR obtidos com os iniciadores 54R, ET1, ER e EF de: canaleta 1: *B. glabrata* não infectada, 2: *B. glabrata* eliminando cercária de *Schistosoma mansoni*, 3: *B. glabrata* infectada com *Schistosoma mansoni* (após sete dias de infecção), 4: *B. glabrata* infectada com *Schistosoma mansoni* (após 28 dias de infecção), 5: cercária de *Schistosoma mansoni*, 6: *B. glabrata* morta há 24 horas, infectada com *Schistosoma mansoni*, 7: Controle negativo. No lado esquerdo do gel está representado o padrão de peso molecular. As setas em preto indicam os fragmentos característicos do mtDNA, a seta vermelha o fragmento correspondente ao rDNA de molusco e a seta azul o correspondente ao rDNA de trematódeo

Fonte: Jannotti-Passos et al. (1997).

Figura 17 – Gel de poliacrilamida 6%, corado pela prata, mostrando os produtos de Multiplex-PCR obtidos com os iniciadores 54R, ET1, ER, EF dos seguintes exemplares: canaleta 1: *B. glabrata* não infectada, 2: *B. glabrata* eliminando *Cercaria caratinguensis*, 3: *Cercaria caratinguensis*, 4: cercária de *Schistosoma mansoni*, 5: *Cercaria macrogranulosa*, 6: controle negativo. Ao lado do gel está representado o padrão de peso molecular. As setas em preto indicam as bandas características do mtDNA de *Schistosoma mansoni,* a seta em vermelho indica o gene correspondente ao rDNA de moluscos e as setas em azul o gene correspondente ao rDNA de trematódeos

Fonte: Jannotti-Passos et al. (1997).

Mais recentemente, a Multiplex-PCR foi utilizada, simultaneamente, na identificação da espécie de *Biomphalaria* e no diagnóstico de infecção por *S. mansoni* (Jannotti-Passos et al., 2006). Para a identificação das espécies dos moluscos utilizou-se o iniciador IT2F (5'TGCTTAAGTTCAGCGGGT) ancorado à porção 5.8S e três iniciadores, *reverses*, BglITS2r (5' GCCCATACGTAAAGATTAAC3'), BtenITS2r (5' TGGCCCATCTCACACCTTTGAA3'), BstITS2r (5'AAAAAAAAAGCGCCGCGTTT3') ancorados na porção 28S do gene rDNA das três espécies de *Biomphalaria* hospedeiras de *S. mansoni.* Para a detecção de *S. mansoni* foi utilizado um par de iniciadores

específicos (ER2-CCACCTACCGTACTATGACG) e (EF2-CTTGGTTTCTTAGTGTTATAGCC) para o mtDNA de *S. mansoni* (Jannotti-Passos et al., 1997), com modificações que foram feitas para ajustar as condições de temperatura de anelamento da Multiplex-PCR (Figura 18).

Figura 18 – Gel de poliacrilamida 6%, corado pela prata, dos produtos de amplificação da regiões ITS2 e mitocondrial pela Multiplex-PCR dos seguintes exemplares: canaleta 1-2: cercárias *de Schistosoma mansoni*, 3: *B. glabrata* negativa, 4: *B. glabrata* com sete dias de infecção, 5: *B. glabrata* com 14 dias de infecção, 6: *B. glabrata* com 28 dias de infecção, 7: *B. tenagophila* negativa, 8: *B. tenagophila* com sete dias de infecção, 9: *B. tenagophila* com 14 dias de infecção, 10: *B. tenagophila* com 28 dias de infecção, 11: *B. straminea* negativa, 12: *B. straminea* com sete dias de infecção, 13: *B. straminea* com 14 dias de infecção, 14: *B. straminea* com 28 dias de infecção

Fonte: Jannotti-Passos et al. (2006).

O uso simultâneo dos iniciadores espécie-específicos de *Biomphalaria* e os iniciadores específicos para o mtDNA de *S. mansoni* permitiram:

- identificar *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea* pela observação dos fragmentos correspondentes a cada espécie (um fragmento de 280 pb para *B. glabrata*, um de 320 pb para *B. tenagophila* e outro de 350 pb para *B. straminea*);
- detectar a presença de *S. mansoni* e diagnosticar *B. glabrata, B. tenagophila* e *B. straminea* com 7, 14 e 28 dias de infecção;
- identificar *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea* negativos para *S. mansoni*.

Podem ser observadas, na Figura 18, as bandas correspondentes a cada espécie de molusco geradas pelos iniciadores específicos para a região ITS2 do rDNA de cada espécie e as bandas específicas para *S. mansoni* geradas pela amplificação do mtDNA desse trematódeo. O produto de PCR observado permitiu a

detecção do parasito por intermédio de um perfil caracterizado pela presença de um conjunto de bandas distantes em intervalo de aproximadamente 72 pb. Este perfil reflete a amplificação da região repetitiva em *tandem* do mtDNA de *S. mansoni*.

A detecção de *S. mansoni* em moluscos com o corpo em decomposição ou em conchas vazias (sem o corpo) é impossível em se utilizando as técnicas tradicionais (exposição à luz e esmagamento). Para solucionar esse problema de diagnóstico foi extraído o DNA de vestígios de concha mediante o método de fenol-clorofórmio e amplificado por meio da LS-PCR. O par de iniciadores (ER-5' ACCTACCGTACTATGACG e EF-5' GGTTTCTTAGTGTTATAGCC) utilizado nessa reação amplificou a região repetitiva em *tandem* do DNA mitocondrial de *S. mansoni* (Caldeira et al., 2004). Os perfis de *S. mansoni* obtidos pela LS-PCR estavam presentes em vestígios de matéria orgânica após oito semanas de os moluscos estarem completamente sem o corpo, demonstrando a sua potencialidade em estudos epidemiológicos (Figura 7, vista anteriormente). Essa técnica é importante, uma vez que foi possível, com base em vestígios de matéria orgânica presentes na concha, se obter DNA suficiente para estudos moleculares.

As técnicas de biologia molecular têm demonstrado uma grande utilidade para geração de novos conhecimentos sobre a sistemática e genética de populações de moluscos do gênero *Biomphalaria*. De fato, a partir da análise do genoma de várias espécies de *Schistosoma* e de *B. glabrata,* observou-se que o polimorfismo genético intraespecífico do parasito é limitado, enquanto no molusco é muito pronunciada. Isto sugere que a genética do hospedeiro intermediário pode desempenhar um papel muito mais importante na determinação da epidemiologia da doença do que o próprio parasita (Simpson et al., 1995).

PERSPECTIVAS

Uma das principais contribuições da biologia molecular no estudo dos moluscos será a conclusão do projeto genoma de *Biomphalaria glabrata*, pois as características biológicas de um organismo são definidas pela seqüência de nucleotídeos do seu genoma. Nos últimos anos, a comunidade científica tem assistido e participado da concentração de esforços em torno da priorização de verbas destinadas a apoiar projetos na área biomédica, envolvendo seqüenciamento genômico em larga escala. Estes projetos têm como objetivo final a elucidação da estrutura e arranjo de genomas, gerando descobertas sobre o conteúdo gênico dos organismos. A viabilização desses projetos deve-se aos grandes avanços nas estratégias metodológicas utilizadas na determinação das seqüências e às análises e correlações dessas seqüências com informações já existentes em bancos de dados, mediante o uso de sofisticados programas computacionais e complexos algoritmos. O projeto genoma de *B. glabrata* foi iniciado em 2002, por um esforço conjunto de pesquisadores do mundo inteiro, liderado pelo dr. Coen M. Adema. Até setembro de 2006, já tinham sido depositados no GenBank 11.437 nucleotídeos, sendo 9.389 etiquetas de seqüências expressas (ESTs). Informações sobre o andamento do projeto podem ser encontradas no *site* http://biology.unm.edu/biomphalaria-genome/index.html.

Outra expectativa é o avanço no estudo do proteoma de *Biomphalaria*, uma vez que o sucesso na identificação de proteínas utilizando bancos de dados para depósito das seqüências de peptídeos obtidas por espectrometria de massa está diretamente relacionado aos bancos de dados genômicos do organismo em questão.

REFERÊNCIAS

ABDEL-HAMID, A. H. et al. Genetic variation between suscetible and non-suceptible snails to *Schistosoma* infection using random amplified polymorphic DNA analysis (Rapds). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 5: 291-295, 1999.

ADEMA, C. M. The genome of *Biomphalaria glabrata*. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE ESQUISTOSSOMOSE, 10, Livro resumo, 2005, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte, 2005.

AVISE, J. C. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. New York: Chapman and Hall, 1994.

BAILEY, J. B.; MICHELSON, E. H. & PARAENSE, W. L. Differentiation of the sibling species *Biomphalaria occidentalis* and *Biomphalaria tenagophila* by the electrophoretic patterns of their hemoglobin. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 81: 319-322, 1986.

BAIR, R. D. & ETGES, F. J. *Schistosoma mansoni* – factors affecting hatching of eggs. *Experimental Parasitology*, 33: 155-167, 1973.

BAKER, F. C. Subfamilies, genera, and subgenera – recent and fossil. In: BAKER, F. C. *The Molluscan Family Planorbidae*. Urbana: University Illinois Press, 1945.

BANDONI, S. M.; MULVEY, M. & LOKER, E. S. Phylogenetic analysis of eleven species of *Biomphalaria* Preston, 1910 (Gastropoda: Planorbidae) based comparasions of allozymes. *Biological Journal of the Linnean Society*, 54: 1-27, 1995.

BARBOSA, F. S. & COELHO, M. V. Alguns aspectos epidemiológicos relacionados com a transmissão da esquistossomose em Pernambuco, Brasil. *Publicações Avulsas do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães*, 5: 31-47, 1956.

BARBOSA, L. et al. Resistance to *Schistosoma mansoni* by transplantation of APO *Biomphalaria tenagophila*. *Parasite Immunology*, 28: 209-212, 2006.

BROWN, D. S. *Freshwater Snails of Africa and their Medical Importance*. 2. ed. London: Taylor & Francis, 1994.

CALDEIRA, R. L. et al. Molecular identification of similar species of the genus *Biomphalaria* (Mollusca: Planorbidae) determined by a PCR-RFLP. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93: 219-225, 1998.

CALDEIRA, R. L. et al. Identification of planorbids from Venezuela by polymerase chain reaction amplification and restriction fragment length polymorphism of ITS of the RNA ribosomal gene. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95: 171-177, 2000.

CALDEIRA, R. L. et al. Genetic variability in Brazilian population of *Biomphalaria straminea* complex detected by simple sequence repeat anchored polymerase chain reaction amplification. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 535-544, 2001.

CALDEIRA, R. L. et al. Diagnostic of *Biomphalaria* Snails and *Schistosoma mansoni*: DNA Obtained from Traces of Shell Organic Materials. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99: 499-502, 2004.

CAMPBELL, G. et al. Molecular evidence supports an African affinity of the Neotropical freshwater gastropod, *Biomphalaria glabrata*, Say 1818, an intermediate host for *Schistosoma mansoni*. *Proceedings Biological Sciences/The Royal Society*, 267: 2.351-2.358, 2000.

CAMPOS, Y. R. *Comparação das Técnicas de SSR-PCR Ancorado, AP-PCR e Isoenzimas no Estudo da Variabilidade Genética de Populações Brasileiras de* Biomphalaria glabrata, 2001. Dissertação de Mestrado, Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz.

CAMPOS, Y. R. et al. Genetic variability of the main intermediate host of the *Schistosoma mansoni* in Brazil, *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Planorbidae) assessed by SSR-PCR. *Acta Tropica*, 83: 19-27, 2002.

CARVALHO, O. S. & CALDEIRA, R. L. Identificação morfológica de *Biomphalaria glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea*, hospedeiros intermediários do *Schistosoma mansoni* [CD-ROM]. Belo Horizonte: Centro de Pesquisas René Rachou, 2004. (Série Esquistossomose, 6)

CARVALHO, O. S. et al. Primeiro encontro de *Biomphalaria tenagophila* (D'Orbigny, 1935) naturalmente infectada, com *Schistosoma mansoni* em Itajubá, sul do estado de Minas Gerais. Brasil. *Revista de Saúde Pública de São Paulo*, 19: 88-91, 1985a.

CARVALHO, O. S. et al. Situação atual da esquistossomose mansônica no Lago da Pampulha. Belo Horizonte, MG, Brasil. *Revista de Saúde Pública de São Paulo*, 19: 270-277, 1985b.

COELHO, P. M. Z. Resistência e susceptibilidade à infecção por *Schistosoma mansoni* em caramujos do gênero *Biomphalaria*. In: BARBOSA, F. S. (Org.) *Tópicos em Malacologia Médica*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1995.

CONCEIÇÃO, M. J. et al. Partial Lack of Susceptibility to *Schistosoma mansoni* infection of *Biomphalaria glabrata* strains from Itanhomi (Minas Gerais, Brazil) after fourteen years of laboratory maintenance. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94: 425-426, 1999.

CORRÊA, M. C. R.; COELHO, P. M. Z. & FREITAS, J. R. Susceptibilidade de linhagens de *Biomphalaria tenagophila* e *Biomphalaria glabrata* a duas cepas de *Schistosoma mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 21: 72-76, 1979.

DA SILVA, D. et al. *Biomphalaria tenagophila*: genetic variability within intermediate snail hosts susceptible and resistant to *Schistosoma mansoni* infection. *Parasite*, 11: 43-49, 2004.

DEJONG, R. J.; EMERY, A. M. & ADEMA, C. M. The mitochondrial genome of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Basommatophora), intermediate host of *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology*, 90(5): 991-997, 2004.

DICE, L. R. Measures of the amount of ecological association between species. *Ecology*, 26: 297-302, 1945.

FELSENSTEIN, J. Confience limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39: 783-791, 1985.

FRANDSEN, F. Discussion of the relationships between *Schistosoma* and their intermediate hosts, assessment of the degree of host-parasite compatibility and evaluation of *Schistosoma* taxonomy. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 58: 275-296, 1979.

FREITAS, J. R.; BOSCHI, M. M. & SANTOS, M. B. L. Susceptilidade de "híbridos" de *Biomphalaria tenagophila* a cepa LE (BH) do *Schistosoma mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 27: 6-12, 1985.

GREGORY, T. R. Genome size estimates for two important freshwater molluscs, the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) and the schistosomiasis vector snail (*Biomphalaria glabrata*). *Genome*, 46: 841-844, 2003.

HAMBURGER, J. et al. *Schistosoma-mansoni* antigens recognized in *Biomphalaria-glabrata* hemolymph by monoclonal-antibodies. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 40: 605-612, 1989.

HAMBURGER, J. et al. Identification of schistosome-infected snails by detecting schistosomal antigens and DNA-sequences. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87: 243-247, 1992.

HANELT, B. et al. Detection of *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria* using nested PCR. *The Journal of Parasitology*, 83: 387-394, 1997.

HENRICKSEN, U. B. & JELNES, J. E. Experimental taxonomy of *Biomphalaria* (Gastropoda: Planorbidae): I. Methods for experimental taxonomic studies on *Biomphalaria* carried out by horizontal starch gel electrophoresis and staining of twelve enzymes. *Journal of chromatography*, 188: 169-176, 1980.

HOFMANN, P. R. P. *Aspectos da Biologia e do Polimorfismo Enzimático em três Espécies do Gênero* Biomphalaria, 1987. Tese de Doutorado, São Paulo: Departamento de Biologia, Universidade de São Paulo.

ITTIPRASERT, W. et al. Assessment of genetic heterogeneity within laboratory-maintained *Schistosoma mansoni*-resistant stocks of *Biomphalaria glabrata* snails by Rapd-PCR. *Malacologia*, 45: 101-108, 2003.

JANNOTTI-PASSOS, L. K. *Uso do DNA Mitocondrial de* Schistosoma mansoni *em Estudos de Herança Genética e Diagnóstico de Infecção em* Biomphalaria glabrata, 1998. Dissertação de Mestrado, Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz.

JANNOTTI-PASSOS, L. K. *Seqüenciamento do DNA Mitocondrial de* Biomphalaria tenagophila (Orbigny, 1835) (Mollusca: Gastropoda), 2007. Tese de Doutorado, Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz.

JANNOTTI-PASSOS, L. K. & SOUZA, C. P. Suscetibility of *Biomphalaria tenagophila* and *Biomphalaria straminea* to *Schistosoma m*ansoni infection detected by low stringency polymerase chain reaction. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 42: 291-294, 2000.

JANNOTTI-PASSOS, L. K. et al. PCR amplification of the mitochondrial DNA minisatellite region to detect *Schistosoma mansoni* infetion in *Biomphalaria glabrata* snails. *The Journal of Parasitology*, 83: 395-399, 1997.

JANNOTTI-PASSOS, L. K. et al. Multiplex-PCR for both identification of Brazilian *Biomphalaria* species (Gastropoda: Planorbidae) and diagnosis of Infection by *Schistosoma mansoni* (Trematoda: Schistosomiasis). *The Journal of Parasitology*, 92: 426-429, 2006.

JONES, C. S. et al. Molecular identification of schistosome intermediate hosts: case studies of *Bulinus forskalli* group species (Gastropoda: Planorbidae) from Central and East Africa. *Biological Journal of the Linnean Society*, 68: 215-240, 1999.

KANE, R. A. & ROLLINSON, D. Repetitive sequences in the ribosomal DNA internal transcribed spacer of *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma intercalatum* and *Schistosoma mattheii*. *Molecular Biochemistry Parasitology*, 63: 153-156, 1994.

KNIGHT, M. et al. *Schistosoma mansoni*: use of a cloned ribosomal RNA gene probe to detect restriction fragment length polymorphisms in the intermediate host *Biomphalaria glabrata*. *Experimental Parasitology*, 73: 285-294, 1991.

KNIGHT, M. et al. The identification of markers segregating with resistance to *Schistosoma mansoni* infection in the snail *Biomphalaria glabrata*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96: 1510-1515, 1999.

LANGAND, J. et al. Population structure of *Biomphalaria glabrata*, intermediate snail host of *Schistosoma mansoni* in Guadeloupe Island using Rapd markers. *Journal Molluscan Studies*, 65: 425-433, 1999.

LOKER, E. S. et al. Ultrastructure of encapsulation of *Schistosoma mansoni* mother sporocysts by hemocytes of juveniles of the 10-R2 strain of *Biomphalaria glabrata*. *The Journal of Parasitology*, 68: 84-94, 1982.

LONG, E. O. & DAWID, I. B. Repeated genes in eukaryotes. *Annual Review of Biochemistry*, 49: 727-764, 1980.

LOTFY, W. M. et al. Specific identification of Egyptian *Biomphalaria* species and possible hybrids using the polymerase chain reaction based on nuclear and mitochondrial loci. *Molecular & Cellular Proteomics*, 19: 21-25, 2005.

MALEK, E. A. *Snails Hosts of Schistosomiasis and Other Snail-transmitted Diseases in Tropical America: a manual*. Washington: PanAmerican Health Organization/WHO, 1985. (Scientific Publication, 478)

MALEK, E. A. & FILE, S. K. Eletrophoretic studies on the disgestive gland esterases of some *Biomphalaria* and Lymmnaeid snails. *Bulletin of the World Health Organization*, 45: 819, 1971.

MANDAHL-BARTH, G. Intermediate hosts of *Schistosoma*. African *Biomphalaria* and *Bulinus*. *Bulletin of the World Health Organization*, 16: 1.103-1.163, 1957.

MASCARA, D. & MORGANTE, J. S. Enzyme polymorphism and genetic structure of *Biomphalaria tenagophila* (Gastropoda, Planorbidae) populations: founder effect. *Revista Brasileira de Genética*, 14: 631-644, 1991.

MASCARA, D. & MORGANTE, J. S. Use of isozyme patterns in the identification of *Biomphalaria tenagophila* (D' Orbigny, 1835) and *B. occidentalis* (Paraense, 1981) (Gastropoda: Planorbidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90: 359-366, 1995.

MAVAREZ, J. et al. Microsatellite variation in the freshwater schistosome-transmitting snail *Biomphalaria glabrata*. *Molecular Ecology*, 9: 1.009-1.011, 2000.

MAVAREZ, J. et al. Fine-scale population structure and dispersal in *Biomphalaria glabrata*, the intermediate snail host of *Schistosoma mansoni*, in Venezuela. *Molecular Ecology*, 11: 879-889, 2002.

MAYR, E. *Systematics and the Origin of Species*. New York: Columbia University Press, 1942.

MELO, A. L. & PEREIRA, L. H. On the finding of *Biomphalaria tenagophila* naturally infected with *Schistosoma mansoni* in the State of Minas Gerais, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 27: 99-101, 1985.

MILLER, A. N. et al. *Schistosoma mansoni* use of a subtractive cloning strategy to search for RFLPs in parasite-resistant *Biomphalaria glabrata*. *Experimental Parasitology*, 84: 420-428, 1996.

MORITZ, C. & HILLIS, D. M. Molecular systematics: context and controversies. In: HILLIS, D. M.; MORTIZ, C. & MABLE, B. K. *Molecular Systematics*. 2. ed. Massachusetts: Sinauer Associates Sunderland, 1996.

MULVEY, M. & VRIJENHOEK, R. C. Genetic variation among laboratory strains of the planorbid snail *Biomphalaria glabrata*. *Biochemical Genetics*, 19: 1.169-1.182, 1981.

MULVEY, M. & VRIJENHOEK, R. C. Population-structure in *Biomphalaria glabrata*: examination of an hypothesis for the patchy distribution of susceptibility to schistosomes. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 31: 1.195-1.200, 1982.

MULVEY, M. & WOODRUFF, D. S. Genetics of *Biomphalaria glabrata*: linkage analysis of genes for pigmentation, enzymes, and resistance to *Schistosoma mansoni*. *Biochemical Genetics*, 22: 877-888, 1985.

MULVEY, M.; NEWMAN, M. C. & WOODRUFF, D. S. Genetic differentiation among west indian populations of the schistosome-transmitting snail *Biomphalaria glabrata*. *Malacologia*, 29: 309-317, 1988.

NARANG, S. & NARANG, N. Esterases in *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Pulmonata) characterization, polymorphism, inheritance pattern and interspecific differences. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 48: 255-262, 1976.

NARANG, S. et al. Genetic differentiation between populations of *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Pulmonata) located in the state of Bahia and in the state of Minas Gerais (Brazil). *Revista Brasileira de Genética*, 4: 269-279, 1981.

NEI, M. & LI, W. H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76: 5.269-5.273, 1979.

PALUMBI, S. R. Nucleic acids: the polymerase chain reaction. In: HILLIS, D. M.; MORTIZ, C. & MABLE, B. K. *Molecular Systematics*. 2. ed. Massachusetts: Sinauer Associates Sunderland, 1996.

PARAENSE, W. L. *Biomphalaria occidentalis* sp.n. from South America (Mollusca: Basommatophora: Pulmonata). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 76: 199-211, 1981.

PARAENSE, W. L. Distribuição dos caramujos no Brasil. In: REIS, F. A.; FARIA, I. & KATZ, N. (Eds.) *Modernos Conhecimentos sobre Esquistossomose Mansônica*. Belo Horizonte: Academia Mineira de Medicina, 1986. v. 14. (Suplemento dos Anais 1983/84)

PARAENSE, W. L. *Biomphalaria kuhniana* (Clessin, 1883), planorbid mollusc from South America. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 83: 1-12, 1988.

PARAENSE, W. L. Taxonomia morfológica e taxonomia molecular. In: SANTOS, S. B. et al. (Eds.) *Tópicos em Malacologia Médica: Ecos do XVIII Encontro Brasileiro de Malacologia*. Rio de Janeiro: Corbã Artes Gráficas, 2003.

PARAENSE, W. L. Planorbidae, Lymnaeidae and Physidae of Ecuador (Mollusca: Basommatophora). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99: 357-362, 2004.

PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. Variation in susceptibility of populations of *Australorbis glabratus* to a strain of *Schistosoma mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 5: 15-22, 1963.

PARAENSE, W. L. & DESLANDES, N. A nova sistemática aplicada aos planorbídeos brasileiros. *Revista do Serviço Especial de Saúde Pública*, 8: 491-510, 1956.

PARAENSE, W. L. et al. *Biomphalaria prona* (Gastropoda: Planorbidae): a morphological and biochemical study. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87: 171-179, 1992.

PELLON, B. & TEIXEIRA, I. *Distribuição da esquistossomose mansônica no Brasil*. Rio de Janeiro: Departamento Nacional de Saúde, Divisão de Organização Sanitária, Ministério da Educação e Saúde, 1950.

PIRES, E. R. et al. Specific Identification of *Biomphalaria tenagophila* and *Biomphalaria occidentalis* populations by the Low Stringency Polymerase Chain Reaction. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92: 101-106, 1997.

PIZA, J. T. et al. *Carta Planorbídica do Estado de São Paulo*. São Paulo: Secretaria de Estado da Saúde, 1972.

POINTIER, J. P.; PARAENSE, W. L. & MAZILLE, V. Introduction and spreading of *Biomphalaria straminea* (Duker, 1848) (Mollusca: Pulmonata: Planorbidae) in Guadalupe, French West Indies. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 88: 449-455, 1993.

POINTIER, J. P. et al. A neotropical snail host of *Schistosoma mansoni* introduced into Africa and consequences for schistosomiasis transmission *Biomphalaria tenagophila* in Kinshasa (Democratic Republic of Congo). *Acta Tropica*, 93: 191-199, 2005.

REMIGIO, E. A. & BLAIR, D. Relationships among problematic North American stagnicoline snails (Pulmonata: Lymnaeidae) reinvestigated using nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *Canadian Journal of Zoology*, 75: 1540-1545, 1997.

ROMANHA, A. J. *Heterogeneidade Isoenzimática em* Trypanosoma cruzi, 1982. Tese de Doutorado, Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.

ROSA, F. M. et al. Dominant character of the molecular marker of a *Biomphalaria tenagophila* strain (Mollusca: Planorbidae) resistant to *Schistosoma mansoni*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99: 85-87, 2004.

ROWE, C. et al. Use of microsatellite variation and Rapd-PCR to assess genetic polymorphism in *Biomphalaria glabrata* snails from a single locale in a schistosomiasis endemic area. *Malacologia*, 45: 149-166, 2003.

SAIKI, R. K. et al. Enzymatic amplification of b-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 230: 1.350-1.354, 1985.

SANTOS, M. B. L. et al. Susceptibilidade ao *Schistosoma mansoni* de híbridos de *Biomphalaria tenagophila* do Taim, RS, Cabo Frio, RJ e Belo Horizonte. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 21: 281-286, 1979.

SCHILTHUIZEN, M.; GITTENBERGER, E. & GULTYAEV, A. P. Phylogenetic relationships inferred from the sequence and secondary structure of ITS1 rRNA in *Albinaria* and putative *Isabellaria* species (Gastropoda, Pulmonata, Clausillidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 4: 457-462, 1995.

SIMPSON, A. J. G. et al. DNA polymorphism of schistosomes and their snail hosts. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90: 211-213, 1995.

SNEATH, P. H. A. & SOKAL, R. R. Numerical taxonomy. *Nature*, 193: 855-860, 1962.

SOUZA, C. P.; JANNOTTI-PASSOS, L. K. & FREITAS, J. R. Degree of host-parasite compatibility between *Schistosoma mansoni* and their intermediate molluscan hosts in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90: 5 -10, 1995.

SPADA, R. G. M. et al. Genetic markers between *Biomphalaria glabrata* snails susceptible and resistant to *Schistosoma mansoni* infection. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97: 53-58, 2002.

SPATZ, L. et al. Study of *Biomphalaria tenagophila tenagophila, B. t. guaibensis* and *B. occidentalis* by polymerase chain reaction amplification and restriction enzyme digestion of the ribosomal RNA intergenic spacer regions. *Journal Molluscan Studies*, 65: 143-149, 1999.

STOTHARD, J. R.; HUGHES, S. & ROLLINSON, D. Variation within the internal transcribed spacer (ITS) of ribossomal DNA genes of intermediate snail hosts within the genus *Bulinus* (Gastropoda: Planorbidae). *Acta Tropica*, 61: 19-29, 1996.

TELES, H. M. S. Distribuição de *Biomphalaria tenagophila e B. occidentalis* no Estado de São Paulo. *Revista de Saúde Pública de São Paulo*, 23: 244-253, 1989.

VAN DAMME, D. *Freshwater Mollusca of North Africa*. Dordreecht: W. Junk Publisher, 1984.

VIDIGAL, T. H. D. A. et al. *Biomphalaria glabrata*: extensive genetic variation in Brazilian isolates by random amplified polymorphic DNA analysis. *Experimental Parasitology*, 79: 187-194, 1994.

VIDIGAL, T. H. D. A. et al. A Low Stringency Polymerase Chain Reaction approach to identification of *Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria tenagophila* intermediate snail hosts of *Schistosoma mansoni* in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 91: 739-744, 1996.

VIDIGAL, T. H. D. A. et al. *Biomphalaria* spp: Identification of the intermediate snail hosts of *Schistosoma mansoni* by polymerase chain reaction amplification and restriction enzyme digestion of the ribosomal RNA gene intergenic spacer. *Experimental Parasitology*, 89: 180-187, 1998.

VIDIGAL, T. H. D. A. et al. Further studies on the molecular systematics of *Biomphalaria* snails from Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95: 57-66, 2000a.

VIDIGAL, T. H. D. A. et al. Phylogenetic relationships among Brazilian *Biomphalaria* species (Mollusca: Planorbidae) based upon analysis of ribosomal ITS2 sequences. *Parasitology*, 121: 611-620, 2000b.

WOODRUFF, D. S. & MULVEY, M. Neotropical schistosomiasis: African affinites of the host snail *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Planorbidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 60: 505-516, 1997.

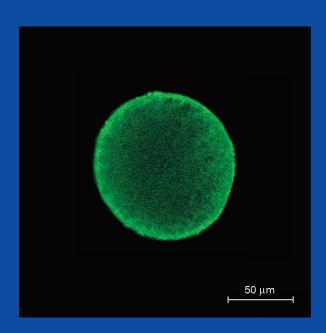
WOOLHOUSE, M. E. & CHANDIAWANA, S. K. Spatial and temporal heterogeneity in the population dynamics of *Bulinus globosus* and *Biomphalaria pfeifferi* and in the epidemiology of their infection with schistosomes. *Parasitololy*, 98: 21-34, 1989.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Technical Report Series, 643.* Geneva: WHO, 1980.

WRIGHT, C. A.; FILE, S. K. & ROSS, G. C. Studies on the enzyme systems of planorbid snails. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 60: 522-525, 1966.

10 Estudo do Desenvolvimento Embrionário de *Biomphalaria glabrata* (Mollusca, Planorbidae) e suas Aplicações

Toshie Kawano
Eliana Nakano
Liz Cristina Watanabe

Ovo indiviso de *Biomphalaria glabrata.*

A fase inicial da ontogênese de um organismo sexuado consiste na formação de células germinativas, a gametogênese. Nessa fase, as ovogônias (2n) e espermatogônias (2n) se multiplicam por mitose e, posteriormente, com o aumento do volume celular, se preparam para a meiose e formação de espermatócitos I (2n) e ovócitos I (2n), seguido de espermatócitos II (n) e ovócitos II (n), que se transformam em espermátides (n) e ovótides (n) e, finalmente, em espermatozóides (n) e óvulos (n) maduros. Da fertilização do óvulo pelo espermatozóide se forma o ovo (2n).

Um organismo multicelular passa por uma transformação lenta e progressiva a partir de uma única célula, o ovo fertilizado ou zigoto. O ovo se divide mitoticamente para produzir todas as células componentes do corpo. Em geral, o estudo desse desenvolvimento é denominado embriologia, e abrange o intervalo entre a fertilização e o nascimento do organismo conhecido como embrião. Porém, sabe-se que o desenvolvimento de organismos multicelulares (multicelulares: em contraposição a unicelulares) não se estabiliza com o nascimento, ou mesmo na fase adulta como, por exemplo, no caso da formação de milhões de novos eritrócitos em cada minuto de nossas vidas. Mais recentemente, outros processos foram incluídos no estudo do desenvolvimento embrionário, que passou, então, a ser denominado biologia do desenvolvimento (Gilbert, 1994).

ETAPAS DA BIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO

O estudo da biologia do desenvolvimento tornou-se essencial para a compreensão de outras áreas integradas da biologia como: biologia molecular, fisiologia, biologia celular, anatomia, pesquisas em câncer, imunologia, estudos evolucionários e ecológicos.

As principais etapas do desenvolvimento incluem diferentes transformações como:

- diferenciação, que é a produção e organização de diversos tipos de células originadas de uma simples célula, o ovo;
- morfogênese, que é o processo de organização de diferentes células em tecidos e órgãos;
- crescimento, que é o aumento do tamanho e do número celular;
- reprodução, que é responsável pela perpetuação da espécie.

As diferentes etapas após a fertilização do ovo são:

- clivagem, que consiste na divisão mitótica do ovo sem aumento do citoplasma, fase esta que compreende os estádios de mórula e blástula;
- segue-se o estádio de gastrulação, que se caracteriza pela movimentação, diferenciação e pelo aumento celular. Nessa fase, o embrião inicia a formação da cavidade anterior, o blastósporo, que formará a futura boca; na região oposta há a formação da glândula da concha. O embrião modifica sua forma em razão das movimentações celulares;
- na organogênese os embriões já apresentam a formação de órgãos;
- no próximo passo do desenvolvimento, as células germinativas são destinadas para a função específica da reprodução e o resto das células formadas no corpo são as somáticas. Com os organismos fisicamente maduros e aptos à reprodução, os gametas se fundem; esta fusão é a fertilização, iniciando-se um novo ser, que vai passar pela senescência e morte.

O estudo da embriologia normal de caramujos do gênero *Biomphalaria* sp (Mollusca, Gastropoda, Planorbidae) é de suma importância para a análise dos efeitos de agentes químicos e físicos na morfogênese. Muitos compostos são usados como moluscicidas aplicados na natureza para o controle da esquistossomose.

Maturação e Fertilização

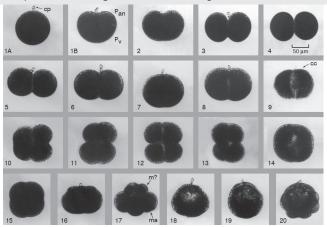
Nos moluscos, em geral, a maturação do ovo acontece independentemente da fertilização, continuando até a metáfase da primeira divisão meiótica de maturação, permanecendo nesse estádio até a penetração do espermatozóide; os ovos não fertilizados ficam bloqueados nesse estádio. A fertilização ocorre normalmente entre o início da maturação e a metáfase da primeira divisão de maturação; isso é observado em moluscos dos seguintes gêneros (Raven, 1958): *Cumingia, Mytilus, Ostrea commercialis, Dentalium, Bulla, Crepidula, Physa, Limnaea, Limax, Helix* e *Eulota*.

De acordo com Longo (1976), a fertilização ocorre nos ovos de clivagem espiral em três etapas:

- incorporação do espermatozóide com desenvolvimento do pronúcleo masculino e bloqueio da poliespermia (entrada de vários espermatozóides no óvulo);

- reinício da meiose no ovócito: ocorre a quebra da vesícula germinal, formação do primeiro e segundo corpúsculos polares e desenvolvimento do pronúcleo feminino;
- fusão dos dois pronúcleos, o feminino com o masculino, formando o genoma embriônico, e início da mitose.

Quando o caramujo coloca a desova no exterior, o ovócito I está na fase de metáfase da primeira meiose para se transformar em ovócito II (formação do primeiro corpúsculo polar). Nesse estádio, a desova do gênero *Biomphalaria* sp se apresenta com a cápsula externa maleável e a substância albuminosa opaca. A emissão do primeiro corpúsculo polar ocorre entre 15 e trinta minutos após a oviposição. Em seguida, ocorre a segunda divisão meiótica, formando a ovótide – formação do segundo corpúsculo polar, após cerca de cinqüenta a oitenta minutos (Figura 1: um ovo de *Biomphalaria glabrata* com dois corpúsculos polares). Na região onde se encontram os corpúsculos polares, está localizado o pólo animal do ovo; a região oposta é a vegetativa. Em seguida à emissão dos corpúsculos polares, observam-se movimentos amebóides no ovo: como em *Lymnaea stagnalis* (Raven, 1945) e em *Biomphalaria* sp, o contorno do ovo é irregular, com movimentos amebóides. Em seguida, os pronúcleos feminino e masculino se unem formando o genoma do embrião, que iniciará a mitose em torno de sessenta minutos após a emissão do segundo corpúsculo polar.

Figura 1A – Ovo antes da primeira clivagem
Figuras 1B a 20 – As quatro primeiras clivagens do ovo de *B. glabrata*

Clivagem em Espiral

A clivagem em espiral é característica dos moluscos em geral, exceto dos cefalópodos, e também dos anelídeos, turbelários e nemertinos. Esse tipo de clivagem se difere da radial:

- por causa do ângulo oblíquo que se forma no eixo animal-vegetativo do embrião;
- o arranjo termodinâmico maximiza o contato entre os blastômeros e é o que distingue os embriões de clivagem em espiral;
- os embriões de clivagem em espiral se dividem com menor velocidade, permitindo, assim, que o estudioso possa seguir o destino de cada blastômero (Gilbert, 1994).

O padrão espiral é facilmente observado na terceira clivagem do ovo, no qual o primeiro quarteto de micrômeros é formado. Do pólo animal, o fuso é visto no sentido horário e o molusco é destro; quando acontece o oposto, é sinistro. Foi Crampton (1894), estudando a linhagem celular de *Physa*, que notou que havia correlação entre a abertura da concha e a direção de clivagem do molusco; portanto, quando a direção é destra, a abertura da concha é destra; assim, os de clivagem reversa ou sinistra têm a abertura sinistra.

Nos moluscos de clivagem em espiral, há determinantes morfogenéticos que estão situados no pólo vegetativo do ovo e desempenham um papel importante, estabelecendo a organização primordial do futuro embrião. Tais determinantes (Verdonk & Cather, 1983) podem estar localizados em estruturas citoplasmáticas ou podem estar ligadas ao córtex da região vegetativa do ovo e serem distribuídos para certos blastômeros, determinando o destino dos mesmos. Os determinantes, provavelmente, são sintetizados durante a ovogênese; sua natureza ainda é discutível (Boon-Niermeijer, 1987).

Em algumas espécies de moluscos, embriões contendo o lóbulo polar que é uma estrutura citoplasmática sem núcleo, evidenciado nas primeiras clivagens em razão do tamanho diferente nos dois primeiros blastômeros. O lóbulo polar é muito importante para o estudo da embriologia experimental, pois contém os determinantes morfogenéticos que comandam o ritmo e a orientação do blastômero D, parte dorsal do embrião. Os determinantes irão mais tarde para o 4d, responsável pela diferenciação da mesoderme e do intestino, determinando a bilateralidade do embrião. Na embriologia experimental, embriões com lóbulo polar são mais conspícuos, pois se sabe com antecedência qual blastômero está sendo manipulado.

No desenvolvimento embrionário que origina quatro blastômeros de tamanhos iguais, o quadrante D também será a parte dorsal do embrião. Na clivagem em que o embrião atinge 24 blastômeros, entretanto, o quadrante D já age como determinante, entre os micrômeros e um macrômero do pólo vegetativo. Em todos os moluscos, o quadrante D age como organizador que, por intermédio de interações celulares, controla o desenvolvimento de outros quadrantes (Verdonk & Cather, 1983).

A linhagem celular foi estudada por vários pesquisadores desde o final do século XIX (Raven, 1958) e, posteriormente, foram realizados trabalhos com *Lymnaea stagnalis* (Verdonk, 1965), *B. glabrata* (Camey & Verdonk, 1970), *Biomphalaria tenagophila* (Watanabe, 1997) e *Biomphalaria straminea* (Oliveira, 2001). O estudo da embriologia neste capítulo se baseará na espécie *B. glabrata*, e serão discutidas as características que as outras duas espécies apresentarem.

Nomenclatura e Notação

Para o estudo da linhagem celular, houve a necessidade de se padronizar a nomenclatura e notação para que as espécies pudessem ser acompanhadas nas suas diversas etapas do desenvolvimento e também para possibilitar o estudo comparativo entre diferentes moluscos.

A nomenclatura utilizada foi a mesma de Conklin (1897), que estudou a linhagem celular em *Crepidula.*

As características de uma clivagem em espiral são:

- o fuso na divisão é oblíquo em relação ao eixo animal vegetativo do ovo (Wilson, 1892);
- a clivagem se alterna de acordo com a mudança na direção do fuso, a cada divisão sucessiva dos blastômeros, do sentido horário para o anti-horário.

A notação para se designar as gerações sucessivas de micrômeros consiste de uma letra, um coeficiente e um expoente. A letra representa a origem do micrômero, o coeficiente indica o número da camada do micrômero e o expoente representa o número de gerações. O termo quarteto foi adotado por Conklin (1897) e é fundamental para o entendimento da linhagem celular. O quarteto se origina na segunda clivagem do ovo, A, B, C e D, e é pela clivagem sucessiva deste quarteto que se processa todo o desenvolvimento embrionário do molusco. Nas espécies de *Biomphalaria* (Camey, 1968), há a divisão de uma quinta camada de micrômeros, mas somente três se dividem: 5A, 5B e 5C; o 4D permanece sem se dividir, até onde foi observado (Camey & Verdonk, 1970).

Para os macrômeros, foi adotada a nomenclatura utilizada por Wierzejski (1905), que estudou *Physa fontinalis*; e consiste em alterar a numeração do macrômero de acordo com a separação do quarteto de micrômeros.

Há muitas divergências quanto à utilização do termo embrião ou do termo larva em moluscos com desenvolvimento dentro da cápsula do ovo até a eclosão. Para facilitar a leitura, neste capítulo será denominado de embrião o estádio de primeiras clivagens do ovo, até a gástrula. Do estádio de trocófora jovem até véliger a denominação será larva, mesmo que o caramujo esteja dentro da cápsula do ovo.

Técnica para evidenciar o limite celular dos embriões

Foi utilizada a técnica de Holmes (1900), que estudou embriologia em *Planorbis trivolvis.* Essa técnica consiste em remover a cápsula do ovo e a albumina dos embriões por meio de uma lavagem em água filtrada, dentro de uma saleirinha (*salt dish*). Em seguida os embriões devem ser colocados numa solução de 0,75% $AgNO_3$ e, logo depois, expostos ao sol ou à lâmpada de UV por dois a cinco segundos, de acordo com o estádio embrionário: os embriões mais jovens (primeiras clivagens, blástula, gástrula e trocófora jovem), de três a cinco segundos; os mais desenvolvidos (como trocófora, véliger jovem e véliger), de dois a três segundos. Durante a exposição, deve-se manter a saleirinha em movimento circular, para que o embrião fique exposto por todos os lados, ressaltando assim o limite celular dos blastômeros. Os embriões são lavados em seguida e transferidos em série de álcoois: 50%, 70%, 80%, 96% (aproximadamente dez horas cada), 100% (3x três minutos) e xilol (3x 20minutos). Os embriões são montados em lâmina e lamínula, com um pedaço de cartolina colada na lamínula e uma abertura redonda, a fim de que os embriões inteiros possam ser manipulados sem dano. Após a montagem, os embriões podem ser movimentados para todos os lados, quando o bálsamo endurecer; uma gota de xilol é suficiente para que a lamínula possa ser deslocada.

DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO

- Ovo indiviso

Um ovo maduro (logo após a oviposição da desova) de *B. glabrata* (Camey & Verdonk, 1970), *B. tenagophila* (Watanabe, 1997) e *B. straminea* (Oliveira, 2001) tem 100 μm de diâmetro. Para a análise dos embriões entre os estágios de ovo maduro até a quarta clivagem do ovo, utilizou-se o fotomicroscópio Zeiss nas preparações *in vivo* realizadas, em intervalos que variaram de dois a cinco minutos; esses estádios são semelhantes aos obtidos por Raven (1946) em *Lymnaea stagnalis*. Na Figura 1-1A observa-se um ovo com dois corpúsculos polares.

Primeira Clivagem

AB e CD = dois blastômeros.

Em *B. glabrata*, a primeira clivagem é meridional e forma dois blastômeros iguais AB e CD. A idade dos embriões de uma mesma desova é calculada da seguinte forma: quando 50% dos ovos atingem o estádio de 1-1B, determina-se o ponto zero para o início da contagem em horas, isso em razão de os ovos não serem sincrônicos, numa mesma desova. O estádio 1B é equivalente ao 1 de Raven (1946), pelas mesmas razões anteriormente descritas.

Ovo indiviso (Figura 1-1A): ovo antes do inicio da divisão, com dois corpúsculos polares.

Início primeira clivagem Figura 1-1B: nota-se o início do sulco de clivagem no pólo animal (hora zero).

Estádio 2 (Figura 1-2): três minutos após o estádio 1B.

Estádio 3 (Figura 1-3): quatro minutos após o estádio 1B.

Estádio 4 (Figura 1-4 e Figura 2-1): com blastômeros ligados por uma pequena superfície citoplasmática, dez minutos após o estádio 1B.

Estádio 5 (Figura 1-5): com blastômeros com maior superfície de contato em aumento gradual até o estádio 1-7, 21 minutos após o estádio 1B.

Estádio 6 (Figura 1-6): 26 minutos após o estádio 1B.

Estádio 7 (Figura 1-7): com blastômeros com maior superfície de contato, em forma oval, 38 minutos após o estádio 1B.

Estádio 8 (Figura 1-8): início do aparecimento da cavidade de clivagem, 45 minutos após o estádio 1B.

Estádio 9 (Figura 1-9): com cavidade de clivagem mais nítida, 75 minutos após o estádio 1B.

Durante a clivagem do ovo, nota-se que os blastômeros passam por uma mudança de formas; inicialmente, se separam um do outro (Figuras 1-3, 1-4, 1-5, 1-11, 1-12, 1-13 e 1-17) e, em seguida, se unem formando uma superfície quase arredondada, como se nota nas Figuras 1-9, 1-14 e 1-19, respectivamente antes da segunda, terceira e quarta clivagens. Logo antes desses estádios, observa-se que entre os blastômeros forma-se uma cavidade denominada cavidade de clivagem (Figuras 1-8, 1-9, 1-14, 1-18 e 1-19), que desaparece logo após cada clivagem. Segundo Raven (1958), essa cavidade regula a pressão osmótica do embrião.

Segunda Clivagem

A, B, C e D = quatro blastômeros.

O estádio 10 (Figura 1-10, Figura 2-2) ocorre oitenta minutos após a primeira clivagem do ovo e nota-se que os dois blastômeros não se clivam ao mesmo tempo: um deles forma o sulco de clivagem antes do outro estádio 10 (Figura 1-10).

Estádio 11 (Figura 1-11): quatro blastômeros bem nítidos, 91 minutos após o estádio 1B.

Estádio 12 (Figura 1-12): início da cavidade de clivagem entre os dois blastômeros, 98 minutos após o estádio 1B.

Estádio 13 (Figura 1-13): com a cavidade de clivagem entre os dois blastômeros, 103 minutos após o estádio 1B.

Estádio 14 (Figura 1-14): com a superfície quase arredondada dos blastômeros, 123 minutos após o estádio 1B.

Estádio 15 (Figura 1-15): superfície com ligeira forma dos blastômeros, 134 minutos após o estádio 1B.

- Terceira Clivagem

Com a formação de 4 micrômeros e 4 macrômeros: 1a-1d, 1A-1D = 8 blastômeros.

O estádio 16 (Figura 1-16 e Figura 2-3) é o embrião de 160 minutos após a primeira clivagem; nesse estádio, há a primeira clivagem do quarteto de micrômeros, 1a-1d, que não jazem sobre os macrômeros, mas sobre os sulcos formados. *Biomphalaria glabrata,* assim como as outras espécies estudadas, possuem a clivagem anti-horária.

Em *B. tenagophila*, com a técnica de microscopia eletrônica de varredura Watanabe (1997), observou-se que o primeiro micrômero a se dividir foi o 1d, seguido de 1a, 1b e 1c; essa observação foi a primeira a ser detectada nesse estádio (Figuras 3-1A, 3-1B, 3-1C e 3-1D). No sulco do pólo animal, os micrômeros 1a e 1c estão unidos, enquanto no vegetativo 1B se une com 1D.

Quando o micrômero atinge o estádio 17 (Figura 1-17), 165 minutos após a primeira clivagem do ovo (estádio 1B), observa-se o arredondamento dos blastômeros e em seguida os estádios 18 (173 minutos após o estádio 1B) e 19 (181 minutos após o estádio 1B). Nesses estádios (Figuras 1-18 e 1-19), ocorre o aumento da cavidade de clivagem entre os blastômeros.

- Quarta Clivagem

Com a clivagem de 1A-1D, para 2a-2d, 2A-2D e mais os micrômeros 1a-1d, o embrião ficou com 12 blastômeros: 8 micrômeros e 4 macrômeros.

Nas Figuras 1-20 e 2-4, observa-se o embrião de três horas e cinqüenta minutos após a primeira clivagem do ovo. O segundo quarteto de micrômeros 2a-2d se separa dos macrômeros no sentido sinistro (Figura 2-4), o embrião atingindo 12 blastômeros.

- Quinta Clivagem

Neste estádio há o total de 16 blastômeros: 12 micrômeros e 4 macrômeros = $1a^1$-$1d^1$, $1a^2$-$1d^2$, 2a-2d, 2A-2D.

A quinta clivagem ocorre cinco horas após o estádio 1B; o primeiro quarteto de micrômeros, que é denominado ectômeros, (são blastômeros que dão origem ao ectoderma) é o quadrante que se divide no sentido dextrorso, originando 16 blastômeros (Figura 2-5).

- Sexta Clivagem

Os seguintes blastômeros formam este estádio:

$1a^1$-$1d^1$, $1a^2$-$1d^2$,
$2a^1$-$2d^1$, $2a^2$-$2d^2$,
3a-3d, 3A-3D= 24 blast.; 20 micrômeros e 4 macrômeros.

A sexta clivagem ocorre seis horas após o estádio 1B, os quartetos 2a-2d e 2A-2D se clivam ambos no sentido sinistrorso, completando 24 blastômeros. Nesse estádio, o embrião entra em 'repouso', como em outras espécies estudadas, por exemplo: *Planorbis trivolvis, Physa fontinalis* e *Lymnaea stagnalis*, permanecendo nesse estádio por cerca de três horas (Figura 2-6).

Na Figura 2-7 estádio de 24 blastômeros, quando se visualiza do pólo vegetativo, cerca de sete horas após o estádio 1B.

- Estádio de 25 blastômeros:

  $1a^1$-$1d^1$, $1a^2$-$1d^2$,
  $2a^1$-$2d^1$, $2a^2$-$2d^2$,
  3a-3d, 3A-3C, 4D e 4d = 25 blast.; 21 micrômeros e 4 macrômeros.

Esse estádio se caracteriza pela divisão do 3D em 4d ou M e 4D, nove horas após o estádio 1B, atingindo 25 blastômeros (Figura 2-8).

Nesse estádio, a posição do 4d (M) e o eixo animal-vegetativo indicam o plano mediano de simetria do futuro embrião; o 4d indica a posição dorsal.

- Estádio de 33 blastômeros:

  $1a^1$-$1d^1$, $1a^2$-$1d^2$,
  $2a^{11}$-$2d^{11}$, $2a^{12}$-$2d^{12}$, $2a^{21}$-$2d^{21}$, $2a^{22}$-$2d^{22}$
  3a-3d, 3A-3C, 4D e 4d = 33 blast.; 29 micrômeros e 4 macrômeros.

Na Figura 2-9, um embrião de dez horas após o estádio 1B é mostrado, as duas camadas do segundo quarteto de micrômeros se dividem em $2a^1$-$2d^1$ e $2a^2$-$2d^2$, no sentido dextrorso, dando origem ao estádio de 33 blastômeros.

- Estádio de quarenta balstômeros:

  $1a^1$-$1d^1$, $1a^2$-$1d^2$,
  $2a^{11}$-$2d^{11}$, $2a^{12}$-$2d^{12}$, $2a^{21}$-$2d^{21}$, $2a^{22}$-$2d^{22}$,
  $3a^1$-$3d^1$, $3a^2$-$3d^2$
  4a-4d, 4A-4D = 40 blast.; 36 micrômeros e 4 macrômeros.

O estádio de quarenta blastômeros é um embrião um pouco antes de 11 horas após o estádio 1B; os micrômeros 3a-3d e os macrômeros 3A, 3B e 3C se clivam no sentido dextrorso.

- Estádio de 45 blastômeros:

  Primeiro quarteto
    $1a^{11}$-$1d^{11}$ (células do centro da cruz),
    $1a^{12}$-$1d^{12}$ (base dos braços da cruz),
    $1a^2$-$1d^2$.

  Segundo quarteto
    $2a^{11}$-$2d^{11}$ (células terminais dos braços da cruz),
    $2a^{12}$-$2d^{12}$

$2a^{21}$-$2d^{21}$,
$2a^{22}$-$2d^{22}$

Terceiro quarteto
$3a^{1}$-$3d^{1}$,
$3a^{2}$-$3d^{2}$

Quarto quarteto
4a-4b, 4c(3 endômeros) 4d (M^{1}+M^{2}, 2 mesômeros),
4A-4D = 41 micrômeros e 4 macrômeros.

Na Figura 2-10, observa-se um embrião com 45 blastômeros, visto do pólo vegetativo, idade de 12 horas após o estádio 1B. A Figura 2-11 mostra o mesmo embrião da figura anterior, visto pelo pólo animal. O embrião apresenta no pólo animal uma forma de cruz que é característica em anelídeos e moluscos (exceto os cefalópodos). A cruz se compõe de um conjunto de blastômeros do primeiro quarteto de micrômeros e somente a base da cruz é formada pelo segundo quarteto de micrômeros, $2a^{11}$-$2d^{11}$. Nos moluscos, em geral, a cruz vai formar toda a parte cefálica do embrião.

A formação do quarto quarteto de micrômeros e a cruz encerram o período das primeiras clivagens em *B. glabrata.*

Serão descritas as clivagens dos blastômeros em detalhes de mais dois estádios:

- Estádio de 64 blastômeros:

$1a^{11}$-$1d^{11}$, $1a^{12}$-$1d^{12}$, $1a^{21}$-$1d^{21}$, $1a^{22}$-$1d^{22}$,
$2a^{11}$-$2d^{11}$, $2a^{121}$-$2d^{121}$, $2a^{122}$-$2d^{122}$, $2a^{211}$-$2d^{211}$, $2a^{212}$-$2d^{212}$, $2a^{22}$-$2d^{22}$,
$3a^{11}$-$3d^{11}$, $3a^{12}$-$3d^{12}$, $3a^{2}$-$3d^{2}$,
$4a^{1}$-$4b^{1}$, $4c^{1}$, 4d (M^{1}+M^{2}), $4a^{2}$-$4b^{2}$, $4c^{2}$,
4A-4D = 64 blast.; 60 micrômeros e 4 macrômeros.

Na Figura 2-12, observa-se um embrião no estádio em cruz, visto do pólo animal, e na Figura 2-13 o mesmo é visto do pólo vegetativo, com a idade de 15 horas após o estádio 1B.

- Estádio de 83 blastômeros:

$1a^{11}$-$1d^{11}$, $1a^{121}$-$1d^{121}$, $1a^{122}$-$1d^{122}$, $1a^{21}$-$1d^{21}$, $1a^{22}$-$1d^{22}$ [Figura 2-20],
$2a^{11}$-$2d^{11}$, $2a^{121}$-$2d^{121}$, $2a^{122}$, $2b^{122}$,$2c^{1221}$, $2c^{1222}$,$2d^{122}$,
$2a^{211}$-$2d^{211}$, $2a^{212}$, $2b^{212}$, $2c^{212}$,$2d^{2121}$, $2d^{2122}$, $2a^{22}$ -$2d^{22}$, (25)
$3a^{11}$, $3b^{11}$, $3c^{111}$,$3d^{111}$, $3c^{112}$,$3d^{112}$,$3a^{12}$, $3b^{12}$, $3c^{121}$, $3c^{122}$,$3d^{12}$,
$3a^{211}$-$3d^{211}$, $3a^{212}$-$3d^{212}$, $3a^{22}$-$3d^{22}$ [Figura 2-24]
$4a^{1}$-$4b^{1}$, $4c^{11}$, $4c^{12}$, 4d (M_1+M_2), $4a^{2}$-$4b^{21}$, $4b^{22}$, $4c^{2}$ [Figura 2-17],
4A-4D = 83 blast.; 79 micrômeros e 4 macrômeros.

O embrião da Figura 2-14 apresenta cerca de 83 blastômeros com 17 horas de idade, ainda com a forma em cruz, que se apresenta bem visível. Na Figura 2-15, o mesmo embrião se apresenta com a parte ventral, em que se nota os micrômeros do segundo quarteto entre os do terceiro, geração de 2b entre 3a e 3b.

O Primeiro Quarteto de Micrômeros

Na Figura 4, a genealogia do primeiro quarteto de micrômeros é apresentada, desde a primeira clivagem do ovo, correlacionando a idade do embrião com o número de blastômeros.

Estádio de cruz

A cruz em *B. glabrata* se torna evidente, como já descrito anteriormente, quando o embrião atinge o estádio de 45 blastômeros, 12 micrômeros fazem parte da cruz (Figura 2-11) e a idade de é de 12 horas. Em *B. glabrata*, no braço direito se encontram descendentes de 'a', braço esquerdo os originados de 'c', dorsal os de 'd' e ventral os de 'b'.

O centro da cruz é formado pelas células $1a^{11}$-$1d^{11}$ (células do centro da cruz) e $1a^{12}$-$1d^{12}$ (base dos braços da cruz) e $2a^{11}$-$2d^{11}$ (células terminais dos braços da cruz).

Em seguida, o quarteto $1a^{2}$-$1d^{2}$, o trocoblasto primário se divide cerca de 13 horas após o 1B. Os oito blastômeros descendentes, que são os trocoblastos secundários ou definitivos, nunca se dividirão, localizando-se nos ângulos entre os braços da cruz.

A cruz permanece sem alterar durante três horas, porém há a modificação do aspecto em razão de as células $1a^{11}$-$1d^{11}$ penetrarem no embrião (Figura 2-12). O próximo quarteto a se clivar é $1a^{12}$-$1d^{12}$, embrião contendo 76 blastômeros com 16 horas de idade.

Na Figura 2-14, um embrião com 83 blastômeros é observado, com a clivagem de todas as células basais completas.

As células medianas externas $1a^{122}$-$1d^{122}$ se localizam entre as células terminais $2a^{11}$-$2d^{11}$ e as basais $1a^{121}$-$1d^{121}$. Exceto a célula mediana do braço ventral $1b^{122}$ deste quarteto, o único a se dividir durante a fase larval, os outros permanecem sem se dividir em todo o estádio larvário (Figuras 2-25 e 2-26).

As células do centro da cruz $1a^{11}$-$1d^{11}$ são as que se dividem em seguida, no sentido dextrorso. Na Figura 2-16, nota-se um embrião com 97 blastômeros, com a roseta apical $1a^{111}$-$1d^{111}$ e a roseta periférica $1a^{112}$-$1d^{112}$, totalizando vinte micrômeros os que fazem parte da cruz, idade de 18 horas. Durante duas horas a cruz permanece com a mesma configuração.

Quando o embrião atinge cerca de 130 blastômeros, a cruz ainda é visível e é formada por 24 blastômeros, idade de 21 horas e trinta minutos. Nota-se que, após um período de nove horas e trinta minutos, o número de blastômeros aumenta para 36. A cruz nesse estádio é constituída pelo centro, braço dorsal e ventral, lateral direito e esquerdo do embrião (Figura 2-19).

Centro da cruz:
- $1a^{111}$-$1d^{111}$ (células da roseta apical),
- $1a^{112}$-$1d^{112}$ (células da roseta periférica).

Braço dorsal:
- $1d^{1211}$ (célula basal),
- $1d^{1212}$ (célula mediana interna),
- $1d^{122}$ (célula mediana externa),
- $2d^{11}$ (célula terminal).

Braço ventral:
- $1b^{1211}$ (célula basal)
- $1b^{1212}$ (célula mediana interna),

$1b^{122}$ (célula mediana externa),
$2b^{11}$ (célula terminal).

Braço lateral direito:
$1a^{1211}$ (célula basal)
$1a^{1212}$ (célula mediana interna),
$1a^{122}$ (célula mediana externa),
$2a^{11}$ (célula terminal).

Braço lateral esquerdo:
$1c^{1211}$ (célula basal),
$1c^{1212}$ (célula mediana interna),
$1c^{122}$ (célula mediana externa),
$2c^{11}$ (célula terminal).

As etapas do desenvolvimento dos braços serão realizadas separadamente, por apresentarem diferenças.

Centro da cruz

O centro da cruz permanece sem se dividir durante dez horas, quando o quarteto $1a^{112}$-$1d^{112}$ (células da roseta periférica) se divide, com a idade de 24 horas (Figura 2-21). Nos estádios que se seguem, há alteração na forma dos componentes das células do centro da cruz, culminando com o aumento dos seis blastômeros $1a^{111}$-$1d^{111}$, $1a^{1121}$ e $1b^{1121}$ (Figuras 2-23 e 2-24).

Braço dorsal da cruz

No embrião com a idade de 21 horas e trinta minutos, o blastômero $1d^{121}$ se divide em ângulo reto em relação ao braço dorsal (Figura 2-19); os descendentes $1d^{1211}$ e $1d^{1212}$ ficarão um sobre a outro.

Em *L. stagnalis*, entretanto, Verdonk (1965) verificou que a clivagem ocorreu paralelamente à direção do braço dorsal e as células $1d^{1211}$ e $1d^{1212}$ permaneceram uma ao lado da outra. As células $1d^{122}$ (célula mediana externa) e $2d^{11}$ (célula terminal) permanecem sem se dividir. Em *Physa* (Wierzejski, 1905), o blastômero $1d^{122}$ se divide mais uma vez.

Braços laterais da cruz

No embrião com 21 horas de idade, as células $1a^{121}$ (célula basal direita) $1c^{121}$ (célula basal esquerda) se dividem em ângulo reto aos seus braços (Figura 2-19).

As células basais $1a^{1211}$ e $1c^{1211}$ estão em contato com as células da roseta apical, enquanto as células medianas internas $1a^{1212}$ e $1c^{1212}$ estão situadas entre as células basais e as células medianas externas $1a^{122}$ e $1c^{122}$ (Figura 2-19).

As células basais $1a^{1211}$ e $1c^{1211}$ são as próximas a se dividirem, com 24 horas de idade, num plano paralelo ao eixo longitudinal dos braços. Do mesmo modo que as descritas anteriormente, as células medianas internas $1a^{1212}$ e $1c^{1212}$ se dividem às 26 horas de idade (Figura 2-22).

As células medianas internas $1a^{12122}$ e $1c^{12121}$ se dividem com trinta horas de idade. Entretanto, as células descendentes $1a^{12121}$ e $1c^{12122}$ permanecem sem se dividir até as 36 horas de idade (Figura 2-25). Cada braço possui sete células por cerca de seis horas, as células medianas externas $1a^{122}$ e $1c^{122}$ e as terminais $2a^{11}$ e $2c^{11}$ não se dividem mais.

Braço ventral da cruz

A célula basal $1b^{121}$ se divide uma hora antes das suas correspondentes dos braços dorsal e laterais. As células $1b^{1211}$ e $1b^{1212}$ irão se situar uma sobre a outra na direção longitudinal do braço ventral (Figura 2-19).

A célula terminal $2b^{11}$ se divide no sentido meridional quando o embrião se encontra com 21 horas e trinta minutos de idade. Nessa fase o embrião se apresenta pela primeira vez com a simetria bilateral no seu pólo animal; as células correspondentes nos outros braços não se dividem. A próxima a se dividir é a célula $1b^{1212}$ em $1b^{12121}$ e $1b^{12122}$ (Figura 2-20).

As células $1b^{12121}$ e $1b^{12122}$ se dividem quando o embrião se encontra com trinta horas de idade. Antes dessa clivagem, essas células apresentam uma pequena superfície de contato e, após a divisão, ficam completamente separadas (Figura 2-23). A célula $1b^{122}$ é a próxima no plano meridional a se dividir e é a única célula mediana externa da cruz que continua a se segmentar posteriormente (Figura 2-24). As células $1b^{1221}$ e $1b^{1222}$, que estão unidas após a divisão, passarão a se afastar uma da outra, permanecendo ligadas por uma pequena superfície (Figura 2-25). As células terminais $2b^{111}$ e $2b^{112}$ se alojarão logo acima do blastóporo, futura região da boca. As células $1b^{1221}$ e $1b^{1222}$ nunca se dividirão em *L. stagnalis*, enquanto em *B. glabrata* continua a divisão às 43 horas de idade. Essas células podem ser distinguíveis das outras que a limitam por se apresentarem ladeando $1b^{1211}$ e por serem maiores que as descendentes de $1b^{1212}$ (Figura 2-26).

- O Segundo Quarteto de Micrômeros

Na Figura 5, a genealogia do segundo quarteto de micrômeros é apresentada desde a primeira clivagem do ovo.

No estádio de quarta clivagem, o embrião com 12 blastômeros se encontra presente pela primeira vez com o segundo quarteto de micrômeros 2a-2d; este se cliva no estádio de 24 células ($2a^1$ -$2d^1$ e $2a^2$ -$2d^2$). Em seguida, as células terminais da cruz se originam ($2a^{11}$ -$2d^{11}$), seguidas de outras medianas ($2a^{12}$ -$2d^{12}$ e $2a^{21}$ -$2d^{21}$) situadas lado a lado. A camada mais inferior é formada por $2a^{22}$-$2d^{22}$, que se encontra em contato com os endômeros, estádio de 33 blastômeros (Figura 2-9). As clivagens que se seguem ocorrem nos blastômeros: $2d^{21}$ ($2d^{211}$ e $2d^{212}$) inicialmente, seguido de $2a^{12}$ -$2d^{12}$ ($2a^{121}$-$2d^{121}$e $2a^{122}$-$2d^{122}$) e $2a^{21}$, $2b^{21}$e $2c^{21}$ ($2a^{211}$-$2c^{211}$e $2a^{212}$-$2c^{212}$). O quarteto de células terminais dos braços da cruz $2a^{11}$-$2d^{11}$, as células $2a^{11}$, $2c^{11}$, $2d^{11}$ não se dividirão e farão parte da vesícula cerebral e a $2b^{11}$ se dividirá mais uma vez e fará parte do prototroco. Ao final das clivagens descritas, o embrião terá o total de 64 blastômeros, sendo 24 células pertencentes ao segundo quarteto de micrômeros.

Em seqüência, os seguintes quadrantes irão se clivar, embora não sincronicamente, como se observa na Figura 5: $2a^{212}$-$2d^{212}$, $2a^{122}$-$2c^{122}$, $2a^{211}$-$2d^{211}$, $2a^{121}$-$2d^{121}$ e $2a^{22}$-$2d^{22}$. Os blastômeros $2a^{22}$-$2d^{22}$ o $2b^{22}$ se dividem antes dos outros três blastômeros. Nesse quadrante, foram observadas as clivagens até 24 horas de idade e com embrião de 124 blastômeros.

Foi interessante notar que as células M1 e M2 (mesoblasto primário) estiveram visíveis na superfície do embrião no pólo vegetativo, enquanto o blastômero $2d^{22}$ permaneceu sem se clivar e só se dividiu quando o mesoblasto primário já estava dentro do embrião. As três células restantes do mesmo quadrante $2a^{22}$-$2c^{22}$ são os estomoblastos (Figura 2-17) (que fazem parte da região periférica do blastósporo e que mais tarde vão formar o estomodeu).

‣ O Terceiro Quarteto de Micrômeros

Na Figura 6, a genealogia do terceiro e quarto quarteto de micrômeros é apresentada desde a primeira clivagem do ovo.

A primeira clivagem no terceiro quarteto de micrômeros acontece quando o embrião atinge 24 blastômeros. Em seguida, 3a-3d se divide originando $3a^1$-$3d^1$ e $3a^2$-$3d^2$, no estádio de quarenta células. Aqui observa-se que os quartetos não se dividirão sincronicamente. Na região ventral, as células $3a^1$ e $3b^1$ se dividem mais lentamente que $3a^2$ e $3b^2$. Entretanto, na parte dorsal acontece o reverso: $3c^1$e $3d^1$ se dividem antes que $3c^2$ e $3d^2$, os quais permanecem sem se dividir por um longo período e, após completarem 18 horas de idade, formam: $3c^{21}$, $3c^{22}$, $3d^{21}$ e $3d^{22}$.

O quarteto $3a^1$-$3d^1$ se divide dando origem a $3a^{11}$-$3d^{11}$ e $3a^{12}$-$3d^{12}$ (divisão assincrônica); estes irão formar $3c^{111}$, $3d^{111}$ e $3c^{112}$, $3d^{112}$ inicialmente, e, mais tarde, $3c^{121}$-$3d^{121}$ e $3c^{122}$, $3d^{122}$ (estádio de 76 células), os outros dois $3a^{111}$, $3b^{111}$ e $3a^{112}$, $3b^{112}$ e $3a^{121}$, $3b^{121}$e $3a^{122}$, $3b^{122}$ (estádio de 124 células).

Um embrião com um total de 130 blastômeros possui 36 células pertencentes ao terceiro quarteto de micrômeros.

‣ Endômeros

Formado do quarto quarteto de micrômeros e três micrômeros do quinto quarteto

Na Figura 6, a genealogia do quarto e três do quinto quarteto de micrômeros é apresentada.

Quando o embrião atinge 25 blastômeros, o 3D se cliva em 4D e 4d (M); os outros três (3A-3C) irão se clivar somente no estádio de quarenta blastômeros, em 4a, 4b e 4c (endômeros), separando-se dos macrômeros 4A, 4B e 4C (Figura 2-10). Os endômeros se clivam no sentido bilateral quando o embrião atinge 64 blastômeros. Nesta fase, as células $4a^1$, $4a^2$, $4b^1$, $4b^2$ $4c^1$ e $4c^2$ margeiam os macrômeros tomando forma de ferradura. O primeiro endômero a se dividir é $4a^1$, com 16 horas de idade, no sentido sinistrorso, e o embrião possui 76 células. Em seguida, $4c^2$ se divide às 17 horas de idade, no sentido dextrorso; neste estádio, o embrião atinge oitenta células. Após este estádio, o $4b^1$ se cliva no sentido sinistrorso, o embrião alcançando 83 blastômeros. A seguir, ocorre a clivagem nas células $4a^2$ e $4b^2$, no sentido sinistrorso, enquanto o $4c^1$ o faz no sentido dextrorso, e o embrião atinge, agora, 92 blastômeros. Os endômeros $4a^{11}$, $4b^{21}$, $4b^{22}$ se clivam bilateralmente.

Em *B. glabrata* os macrômeros permanecem sem se dividir até o embrião atingir 92 células. A partir deste estádio surge um quinto micrômero, o 4A, que se divide com cerca de 18 horas de idade, seguido por 4B; o 4C se divide com vinte horas de idade, quando o embrião atinge 111 blastômeros. Até o embrião atingir 130 células foi observada a presença de 5a, 5b e 5c (Figura 2-18).

Mesoblasto Primário

O período de repouso é uma característica dos moluscos em geral quando o embrião atinge o estádio de 24 blastômeros. Este repouso pode se prolongar por três horas, quando então o molusco retoma a sua atividade de clivagem com o macrômero 3D, dando origem ao mesoblasto primário M (4d) (Figura 2-8). A próxima clivagem nesse blastômero ocorre quando o embrião atinge 45 células. Inicialmente os mesoblastos M1 e M2 são evidentes na sua superfície (Figura 2-10), aos poucos os dois blastômeros vão penetrando no embrião até alcançarem uma forma triangular bem reduzida na superfície, ficando visíveis até o estádio de 107 células (Figura 2-17).

A linhagem celular no pólo vegetativo em *B. glabrata* foi estudada somente até o estádio de 130 células, quando as células M1 e M2 desapareceram da superfície. O pólo animal, onde fica a região cefálica, entretanto, foi estudado até o estádio de véliger.

Gastrulação

Cerca de 24 horas após a primeira clivagem do ovo (Figura 2-21), há o início da gastrulação, que se caracteriza pelo final da clivagem e início do crescimento, diferenciação e movimentação celular. O tipo de gastrulação nesse caramujo ocorre por invaginação ou endobolia. Os pólos animal e vegetativo começam a se transformar e o embrião modifica sua forma de arredondada para achatada, quando observado em perfil (Figuras 2-22, 2-23, 2-24 e 2-25, visualizada do pólo animal). A ordem de penetração dos blastômeros seria:

5A-5C, 4D = macrômeros
5a-5c
4a-4d e seus descendentes.

À medida que os blastômeros vão penetrando no interior, há formação de uma fenda que inicialmente está situada na região oposta ao centro da cruz. Entretanto, com o desenvolvimento embrionário, há o deslocamento da abertura do blastósporo para a direção ventral do embrião. Essa abertura vai se desenvolvendo e transformando-se em fenda. O blastósporo se comunica com o exterior até 39 horas e se fecha, permanecendo a imagem virtual; ao final da gastrulação haverá o aparecimento da boca neste local do blastóporo. A figura conspícua da cruz se transforma ao final da gástrula, pois o braço ventral se alarga.

Trocófora

É a primeira fase larval de *B. glabrata*, que se caracteriza pela formação do prototroco (região do corpo que separa em duas partes: a região pré-trocal e pós-trocal), que é constituído de duas fileiras de células situadas acima da boca, com cílios recobrindo toda sua superfície. Nesta fase, ocorre o início da movimentação larval, que a princípio é muito lenta e mais tarde vai se tornando mais rápida. O prototroco separa o corpo em duas partes, a região pré-trocal e a região pós-trocal. Na primeira região, encontra-se a futura região cefálica, com a presença de uma placa apical (formada de sete células), duas placas cefálicas (margeando a placa apical, futura região dos olhos e tentáculos) e da vesícula cerebral (formada de 12 células).

Na região pós-trocal encontra-se a boca, situada abaixo da placa apical, e na região oposta encontra-se a glândula da concha.

Essa fase larvária, como em outros pulmonados, transcorre dentro da cápsula do ovo. As diferentes regiões cefálicas serão descritas separadamente.

Prototroco (Pr)

O prototroco é uma estrutura que divide a larva em região pré-trocal e pós-trocal, completamente coberta de cílios. Em *B. glabrata* é constituída de duas fileiras celulares, uma superior formada pelas células terminais do braço ventral da cruz $2b^{111}$ e $2b^{112}$ mais as células ligadas à sua direita, $1a^{21}$ e $1a^{22}$, e à sua esquerda, $1b^{21}$e $1b^{22}$ (Figura 2-27). A segunda fileira, que se encontra situada logo acima da boca, é formada pelas células descendentes de $2b^{122}$ e $2b^{2\ 12}$, que se dividem mais duas vezes, e pelas células $2b^{211}$ e $2b^{121}$.

A primeira fileira do trocoblasto é formada por:

Células terminais do braço ventral da cruz:
$2b^{111}$ e $2b^{112}$;
Células do trocoblasto anterior:
$1a^{21}$e $1a^{22}$,
$1b^{21}$e $1b^{22}$.

A segunda fileira do trocoblasto é formada por:

Células do segundo quarteto de micrômeros:
$2b^{211}$ e $2b^{121}$;
Descendentes das células
$2b^{212}$ e $2b^{122}$ (oito células de cada lado).

Na Figura 3-2 observa-se uma trocófora jovem de *B. tenagophila* com os cílios na região do prototroco.

O prototroco em *B. glabrata* é formado por uma primeira fileira de seis células e uma segunda fileira de 16 células, obtendo-se, portanto, um conjunto de 24 células no total. Comparando-se com *L. stagnalis*, que possui somente uma fileira com oito células, como em *Acmaea*, *Haliotis*, *Aplysia*, *Trochus* e *Umbrella*, *B. glabrata* tem o prototroco bem desenvolvido com duas fileiras, como em *Polyplacophora, Dreissensia, Patella, Paludina, Pteropoda*; outros possuem três fileiras, como *Dentalium* e *Bithynia* ou até mais, como *Crepidula* (Raven, 1958). O prototroco é que dá o movimento rotacional da larva dentro da cápsula.

Placa Apical (PA)

A placa apical é formada por um conjunto de sete células relativamente volumosas, cobertas de microvilosidades, situada entre as placas cefálicas, no meio da região cefálica. (Figura 2-28).

As quatro células dorsais são formadas pelas células da roseta apical $2a^{111}$-$2d^{111}$ com 18 horas de idade, permanecendo sem se dividir até a eclosão. As células ventrais da roseta periférica $1a^{1121}$-$1b^{1121}$ fazem parte da placa apical, situando-se ventralmente às células da roseta apical. A célula basal do braço ventral da cruz $1b^{1211}$ faz parte da placa apical em *B. glabrata*, assim como em *L. stagnalis* (Verdonk, 1965). Em *Planorbis*, Holmes (1900) verificou que tal célula pertence ao prototroco.

- As sete células da Placa Apical:
  Células da roseta apical $2a^{111}$-$2d^{111}$;
  Células ventrais da roseta periférica $1a^{1121}$ e $1b^{1121}$;
  Célula basal do braço ventral da cruz $1b^{1211}$.

Placas Cefálicas (PC)

As placas cefálicas são formadas por duas regiões situadas ao redor da placa apical, e é onde irão se desenvolver os olhos e tentáculos. As duas regiões podem ser caracterizadas pelas formações de grupos de células, como visto nas Figuras 2-24 a 2-30, todos constituídos pelo primeiro quadrante de micrômeros.

Cada placa cefálica se compõe de (Figura 2-26):

	Placa cefálica da direita	Placa cefálica da esquerda
Parte dorsal	$1d^{1121}$ $1d^{1122}$	$1c^{1121}$ $1c^{1122}$
Parte central	$1a^{12111}$ $1a^{12112}$ $1a^{12121}$ $1a^{12122}$	$1c^{12111}$ $1c^{12112}$ $1c^{12121}$ $1c^{12122}$
Parte ventral	$1b^{1122}$ $1b^{12121}$ $1b^{1221}$	$1b^{1122}$ $1b^{12122}$ $1b^{1222}$

Quanto ao tamanho, número e posição, essas células parecem ser simétricas, apesar de terem sido derivadas de formas diferentes. A parte cefálica do lado direito se origina de três quadrantes (a, b e d), enquanto o do lado esquerdo (b e c), isso em razão da posição do quadrante, que está situado à direita do eixo mediano da larva.

A origem dessas células em *B. glabrata* é a mesma que em *Planorbis* (Holmes, 1900); entretanto, em *L. stagnalis* (Verdonk, 1965), as células da parte mediana externa do braço ventral da cruz $1b^{1221}$ e $1b^{1222}$ fazem parte do prototroco.

Vesícula Cerebral (VC)

A vesícula cerebral é formada por um conjunto de doze células relativamente grandes, situadas na região dorsal das placas cefálicas e da placa apical. O embrião com a idade de 21 horas e trinta minutos já possui todas as 12 células, que são originárias dos braços da cruz (Figura 2-26).

A vesícula cerebral é formada por:

- Células do braço dorsal da cruz
  $1d^{211}$ e $1d^{1212}$
  $1d^{122}$ e $2d^{11}$;
- Trocoblasto posterior ou dorsal
  $1c^{21}$ e $1c^{22}$
  $1d^{21}$ e $1d^{22}$;
- Células dos braços laterais da cruz
  $1a^{122}$ e $2a^{11}$
  $1c^{122}$ e $2c^{11}$.

Em *B. glabrata* a vesícula cerebral tem a mesma constituição celular de *Planorbis* e *Lymnaea.*

Véliger

Os estádios de véliger jovem (96 horas, Figura 2-29), véliger (120 horas, Figura 2-30) e 'hippo' (estádio utilizado por Raven, 1949 por ter semelhança com a cabeça de um hipopótamo) (144 horas de idade) em *B. glabrata* ocorrem ainda dentro da cápsula do ovo. O estádio de véliger jovem se apresenta caracterizado pela formação da concha, que começa a cobrir uma parte do corpo. O prototroco evolui para o velum, que é um órgão responsável pela movimentação intensa da larva no interior da cápsula.

No estádio de trocófora, a larva apresenta a formação da concha ou a glândula da concha no lado oposto à boca (blastósporo). No véliger, começa a se evidenciar o início da assimetria pelo desvio da concha, que sofre torção para o lado direito da larva; com o desenvolvimento o corpo vai sendo recoberto na direção anti-horária.

As células que compõem a placa apical e a vesícula cerebral permanecem sem alteração desde a trocófora.

Em véliger, as células que compõem o velum ficam comprimidas entre as placas cefálicas e as células acima da região da boca. As placas cefálicas contêm células menores, em razão das divisões sucessivas e apresentam a futura região do olho e do tentáculo. A região do pé nesse estádio está bem desenvolvida. Em *L. stagnalis*, o gânglio cerebral se origina na região tentacular.

No véliger mais desenvolvido ou 'hippo' (Raven, 1949), o aparecimento do tentáculo bem desenvolvido e dos olhos, do enrolamento e a cobertura do corpo em quase a totalidade pela concha, ainda certas estruturas como a placa apical e a vesícula cerebral são visíveis. A 25ºC, a eclosão dos jovens caramujos pode ocorrer a partir de seis dias ou 144 horas de idade.

Segundo investigação de Raven (1958), os primeiros três quartetos de micrômeros produzirão toda a ectoderme. A parte pré-trocal da ectoderme formada pelo primeiro quarteto de micrômeros desenvolverá mais tarde toda a região cefálica do adulto.

A região pós-trocal ectodérmica deriva do segundo e terceiro quartetos de micrômeros. Entre os ectômeros, o 2d se denomina primeiro somatoblasto, que formará a placa somática, da qual deriva grande parte do corpo ectodérmico ventral e dorsal, incluindo a concha e o pé. O segundo e o terceiro quartetos de micrômeros formarão o mesênquima larval (ectomesoderma).

O blastômero 4d é o segundo somatoblasto que, além da endoderma, forma o mesoderma primário. A endoderma se forma também dos blastômeros 4a-4c e dos macrômeros 4A-4D.

As três espécies de *Biomphalaria* (*B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea*) estudadas até o presente não apresentaram diferenças no seu desenvolvimento embrionário.

Figura 2-1

Figura 2-2

Figura 2-3
1D
1C
1d
1c
1b
1a
1A
1B
Figura 2-4
2D
2d
2C
1d
2a
1c
2c
1a
1b
2A
2b
2B
Figura 2-5
2D
2d
1d2
1d1
2a
1c2
2C
1a1
1c1
2A
1a2
2c
1b1
2b
1b2
2B
Figura 2-6
3d
2a2
2d1
2d2
1d2
1d1
2a1
1c2
1a1
3a
3c
1c1
1a2
2c1
1b1
2b2
2b1
1b2
2c2
3b
Figura 2-7
1d1
1c2
1d2
2d1
2d2
3d
2a2
3c
3A
3D
3C
3B
Figura 2-8
2d2
3c
d(M)
3d
4D
2c2
3C
3A
2a2
3B
3b
3a
2b2

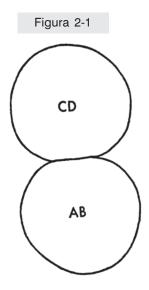
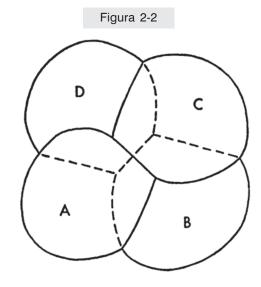
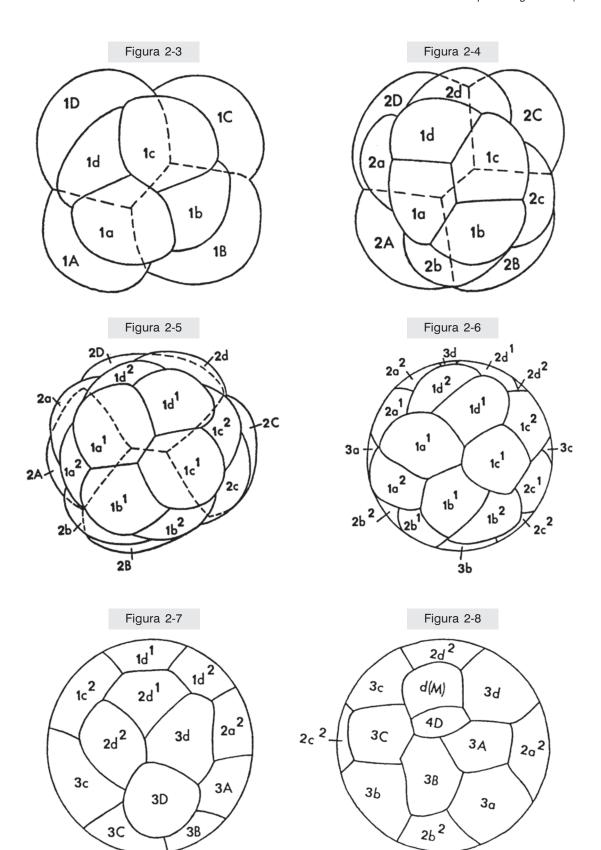
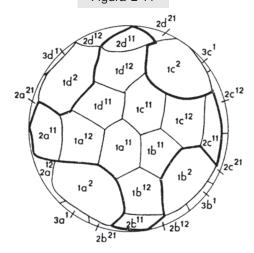
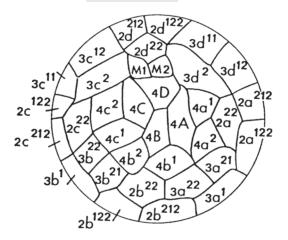



Figura 2-9

Figura 2-10

Figura 2-11

Figura 2-12

Figura 2-13

Figura 2-14

Figura 2-15

Figura 2-16

Figura 2-17

Figura 2-18

Figura 2-19

Figura 2-20

Figura 2-21

Figura 2-22

Figura 2-23

Figura 2-24

Figura 2-25

Figura 2-26

Figura 2-27
B
Figura 2-28
VC
PA
PC
B
P
Figura 2-29
VC
PA
PC
B
V
P
Figura 2-30
VC
PA
T
Q
B
V
P
50 µm

Figura 3 (1C)
1d
CP
1a
1b
C
1A
1B
10 µm
Figura 3 (1D)
1A
1d
1D
1a
C
1b
1B
10 µm

Figura 3 (2)
VC
PA
PC
PC
Pr
Pr
B
P
20 µm

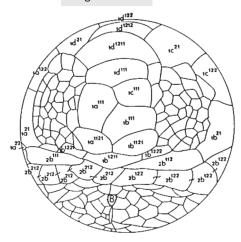
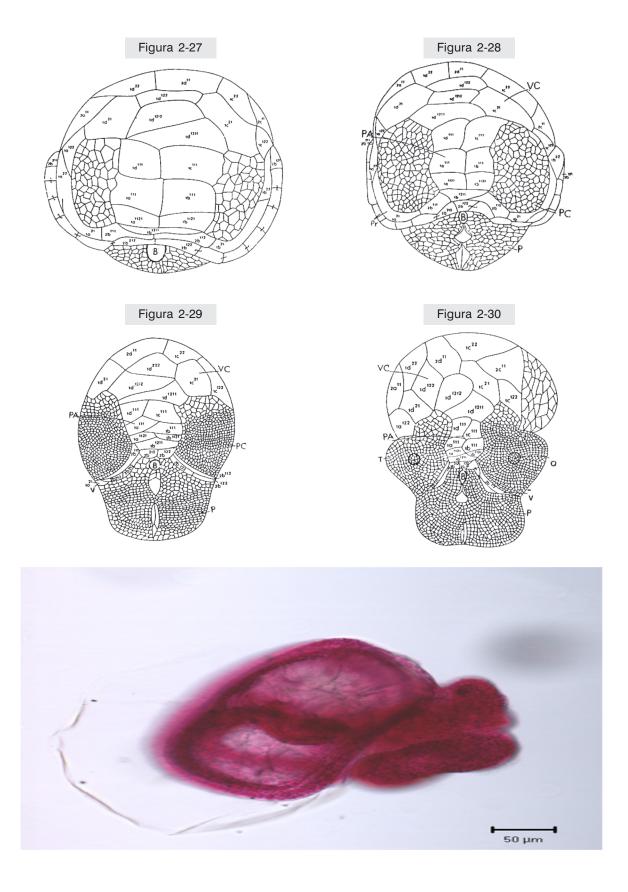
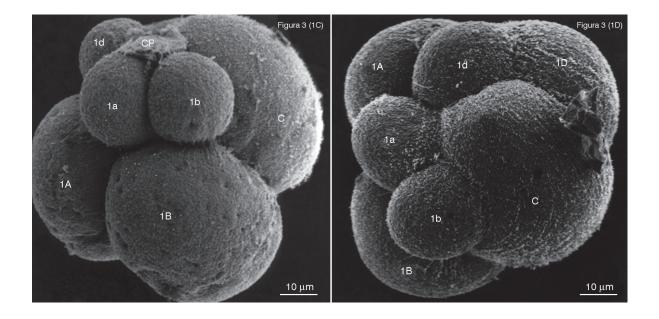
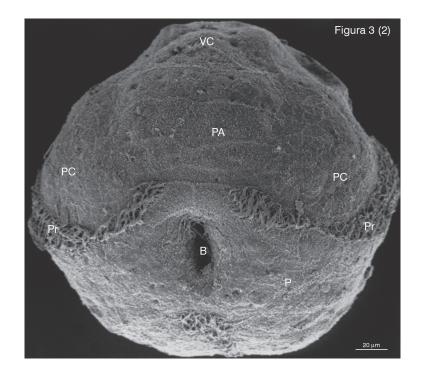
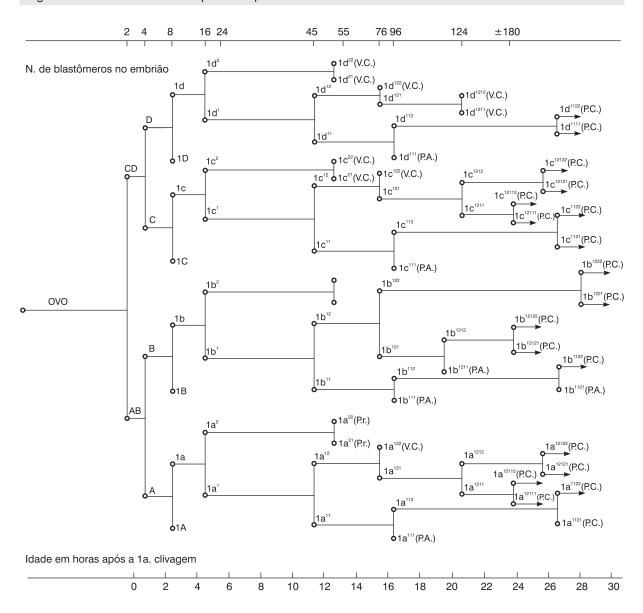



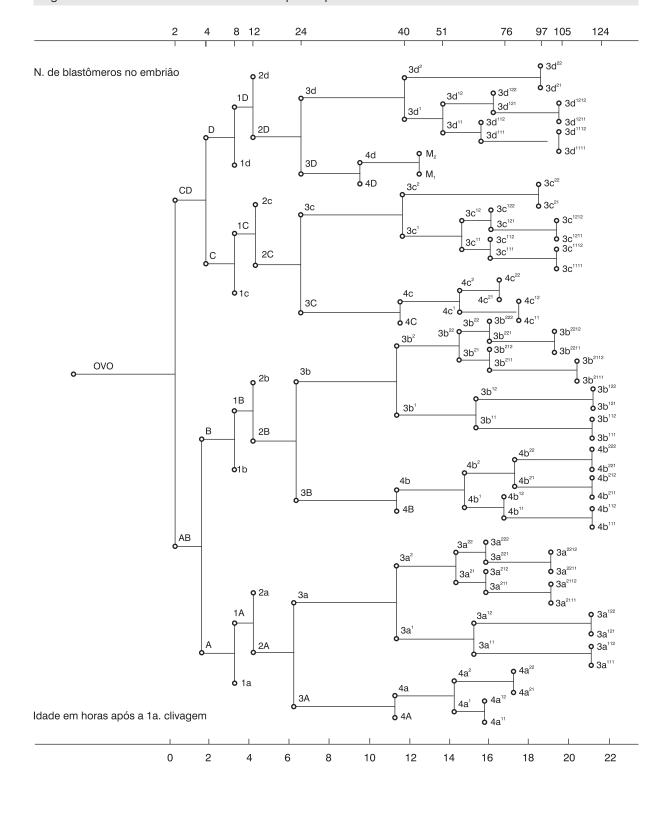
Figura 4 – Desenvolvimento do primeiro quarteto de micrômeros

Figura 5 – O desenvolvimento do segundo quarteto de micrômeros

2 4 8 12 24 29 55 76 97 124

N. de blastômeros no embrião

$2d^{22}$
$2d^{222}$
$2d^{221}$
$2d^{2}$
$2d^{21222}$
2D
1D
$2d^{2122}$
$2d^{212}$
$2d^{21}$
$2d^{21221}$
$2d^{2112}$
2d
$2d^{2121}$
$2d^{211}$
$2d^{2111}$
D
$2d^{11}$(V.C.)
$2d^{1}$
$2d^{122}$
$2d^{1222}$
$2d^{12}$
$2d^{1221}$
1d
$2d^{1212}$
$2d^{121}$
$2d^{1211}$
CD
$2c^{22}$
$2c^{222}$
$2c^{221}$
$2c^{2}$
2C
$2c^{212}$
$2c^{2122}$
1C
$2c^{21}$
1c
$2c^{2121}$
2c
$2c^{211}$
$2c^{2112}$
C
$2c^{2111}$
$2c^{11}$(V.C.)
$2c^{122}$
$2c^{1222}$
$2c^{1}$
$2c^{12}$
$2c^{1221}$
1c
$2c^{121}$
$2c^{1212}$
$1b^{2}$
$2c^{1211}$
$2b^{22}$
$2b^{222}$
OVO
$2b^{221}$
$2b^{2}$
2B
1B
$2b^{212}$(P.r.)
$2b^{21}$
2b
$2b^{211}$(P.r.)
$2b^{11}$
$2b^{112}$(P.r.)
B
$2b^{1}$
$2b^{111}$(P.r.)
$2b^{122}$(P.r.)
$2b^{12}$
1b
$2b^{121}$(P.r.)
$2a^{22}$
$2a^{222}$
AB
$2a^{221}$
$2a^{2}$
2A
$2a^{212}$
$2a^{2122}$
1A
$2a^{21}$
$2a^{2121}$
2a
$2a^{211}$
$2a^{2112}$
A
$2a^{11}$(V.C.)
$2a^{2111}$
$2a^{122}$
$2a^{1222}$
$2a^{1}$
$2a^{12}$
$2a^{1221}$
1a
$2a^{121}$
$2a^{1212}$
Idade em horas após a 1a. clivagem
$2a^{1211}$

0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24

Figura 6 – O desenvolvimento do terceiro e quarto quarteto de micrômeros

EMBRIOLOGIA EXPERIMENTAL

Efeito Morfogenético da Cafeína em Embriões de *B. glabrata*

A cafeína é conhecida como uma substância mutagênica, de acordo com vários pesquisadores que utilizaram essa droga em vários sistemas, como: *Drosophila,* em que a cafeína age causando mutações e aberrações cromossômicas (Andrew, 1959; Mittler, Mittler & Owens, 1967). Em outros sistemas, como os de camundongos e em outros organismos, os autores encontraram efeitos teratogênicos (Nishimura & Nakai, 1960; Kihlman, 1977).

Trabalhos utilizando a cafeína foram realizados em *B. glabrata* (Kawano, Chaves & Simões, 1979), obtendo-se diversas malformações teratomórficas de acordo com a concentração e a idade do embrião tratado. Um trabalho de Kawano & Simões (1987) mostrou que a cafeína atuou em embriões durante o desenvolvimento embrionário, numa análise de linhagem celular. Foi utilizada somente uma dose da cafeína, 0,1%, em embriões no estádio de primeira clivagem do ovo. As desovas foram mantidas a 25ºC por 24 horas e, ao término, foram lavadas três vezes e recolocadas em placas de Petri. Os embriões foram fixados em intervalos de 24 horas, pela técnica de $AgNO_3$ a 0,75%. Em intervalos de 24 horas foram fixados cinco grupos de embriões de 24 a 120 horas após a primeira clivagem do ovo. Os grupos 1 e 5 continham vinte embriões e os grupos 2, 3 e 4, trinta embriões. Os desenhos dos embriões foram realizados com base em fotografias tiradas de embriões fixados, e complementadas por uma câmara clara da Zeiss.

Os resultados experimentais apresentados correspondem a embriões com malformações, analisadas através do estereomicroscópio.Os controles foram mantidos nas mesmas condições experimentais, mas com água filtrada.

- Grupo I – embrião de 24 horas (Figuras 2-31-33)

O embrião nesse estádio é uma gástrula bem desenvolvida, com a formação da cruz que é caracterizada pelos micrômeros originados do primeiro quarteto. Essa cruz irá formar quase a totalidade da cabeça do animal, pois somente as células terminais da mesma são formadas pelo segundo quarteto de micrômeros. Na Figura 2-31, observa-se um embrião-controle, enquanto na Figura 2-32 e na Figura 2-33 são apresentados embriões tratados com cafeína, que se apresentam com um padrão anormal de arranjo das células e bem menos desenvolvidos em relação ao controle.

- Grupo II – embrião de 48 horas (Figuras 2-34-41)

Esse grupo foi fixado 48 horas após a primeira clivagem do ovo e se encontra no estádio de trocófora jovem. Na Figura 2-34, de um embrião-controle com duas fileiras de células, o prototroco (primeira fileira: $2b^{111}$, $2b^{112}$,$1a^{21}$, $1a^{22}$, $1b^{21}$ e $1b^{22}$; segunda fileira: descendentes das células $2b^{121}$, $2b^{211}$, $1b^{122}$ e $2b^{212}$) se apresenta logo acima da região da boca.

Acima da região do prototroco, encontra-se a região pré-trocal, formada por três regiões distintas: a placa apical, as placas cefálicas e a vesícula cerebral. A placa apical está situada entre as duas placas cefálicas. As duas placas cefálicas, por sua vez, formarão a região dos olhos e dos tentáculos. A vesícula cerebral se encontra na parte dorsal das regiões anteriormente descritas, e é formada por um conjunto de 12 células. A região abaixo do prototroco é a pós-trocal, onde se encontram a boca na parte ventral do embrião e a glândula da concha, na região oposta.

Na Figura 2-35, um embrião exposto no estádio de trocófora é apresentado, com três grupos de células menores, uma situada na parte dorsal da cabeça. Normalmente nesse estádio se encontram dois grupos, um em cada lado, como é observado no controle da Figura 2-34.

Na Figura 2-36 está exposto um embrião com as placas cefálicas unidas por uma ponte celular, formando uma figura em forma de ferradura. A ponte em ferradura é formada pelas células $1d^{1211}$ e $1d^{1212}$, que normalmente não se dividem, mas que nesse caso continuaram a se dividir.

Na Figura 2-37, tem-se um embrião com a placa apical formada por sete células e a vesícula cerebral bem desenvolvida, mas com retardo no desenvolvimento, como nos embriões anteriores.

Na Figura 2-38 há um embrião totalmente anormal após o tratamento com a cafeína, apresentando as células da placa apical e da vesícula cerebral.

Na Figura 2-39, observa-se um embrião com assimetria na região cefálica, sendo a parte direita menos desenvolvida que a parte esquerda e ao mesmo tempo apresentando uma irregularidade nas posições das células.

O embrião da Figura 2-40 se apresenta com posição irregular das quatro células $1d^{1211}$, $1d^{1212}$, $1d^{122}$ e $2d^{11}$, que normalmente estão situadas acima da placa apical.

Na Figura 2-41 observa-se um embrião com a região das placas cefálicas unidas, em forma de ferradura, e um estádio um pouco mais desenvolvido que o embrião da Figura 2-36.

- Grupo III – embrião de 72 horas (Figuras 2-42-46)

Na Figura 2-42, observa-se um embrião-controle com 72 horas após a primeira clivagem do ovo com as três regiões na parte cefálica bem delimitadas.

A Figura 2-43 apresenta um embrião com assimetria na região cefálica, além de um retardo no desenvolvimento em relação ao controle.

Na Figura 2-44, tem-se um embrião com a boca ligeiramente desviada à direita e uma fileira de quatro células formando a placa apical.

O embrião da Figura 2-45 se apresenta com uma fileira de células acima da placa apical.

Na Figura 2-46, uma exogástrula é observada apresentando a conexão das duas placas cefálicas na parte ventral do embrião.

- Grupo IV – embrião de 96 horas (Figuras 2-47-50)

Na Figura 2-47 tem-se um embrião controle de 96 horas após a primeira clivagem no estádio de véliger jovem. Esse embrião se caracteriza pelas três regiões anteriormente descritas, porém com as placas cefálicas mais desenvolvidas e a presença dos olhos e tentáculos, da cavidade da boca e da concha que começa a cobrir seu corpo. O prototroco se desenvolve em velum, um órgão de locomoção da larva.

Na Figura 2-48 tem-se um embrião com assimetria no padrão cefálico, além de um expressivo retardo no desenvolvimento.

Na Figura 2-49, observa-se um embrião com a assimetria na região cefálica apresentando uma redução do lado esquerdo; na Figura 50 o embrião se apresenta com a redução cefálica no lado direito, tem 13 células na vesícula cerebral.

- Grupo V – embriões de 120 horas (Figuras 2-51-56)

Ainda nessa fase, os embriões estão dentro da cápsula do ovo. Na Figura 2-51, um embrião-controle em véliger mais desenvolvido ou estádio de 'hippo' é observado. Nessa fase, as estruturas como a placa

apical e a vesícula cerebral ainda são evidentes e os olhos e tentáculos são bem desenvolvidos, assim como a concha, a boca e os pés.

Na Figura 2-52, um embrião tratado se apresenta com a formação de duplicação direita dos olhos, uma ponte de células entre a placa apical e a vesícula cerebral, que é formada por dez células, em vez de 12.

Na Figura 2-53 é observado um embrião contendo a duplicação esquerda dos olhos.

Na Figura 2-54, uma monoftalmia (formação de um olho) destra é observada, enquanto a Figura 2-55 mostra um embrião com a monoftalmia sinistra, a vesícula cerebral em número de dez células e a presença de uma ponte entre as placas cefálicas, havendo uma divisão das células $1d^{1211}$, $1d^{1212}$.

Na Figura 2-56, um embrião tratado com cafeína tem sua região cefálica apresentando uma monoftalmia sinistra com presença de células supernumerárias na placa apical.

O efeito da cafeína em embriões de *B. glabrata* foi previamente descrito por Kawano, Chaves & Simões (1979), e todas as malformações cefálicas foram designadas como teratomórficas.

A análise comparativa entre os embriões-controles em relação aos malformados tratados com a cafeína foi possível, em razão do estudo da linhagem celular apresentada anteriormente por Camey e Verdonk (1970).

Ovos de *Lymnaea stagnalis* (Raven et al., 1947; Verdonk, 1965) tratados com LiCl ou tratados com choque térmico (Geilenkirchen, 1966; Verdonk & de Groot, 1970) foram afetados especialmente perto do pólo animal, resultando no desvio do padrão cefálico. Verdonk (1965) demonstrou que o LiCl é responsável por um desvio na clivagem, num período crucial. Algumas células que permaneceriam sem se dividir, no desenvolvimento normal, continuam se dividindo e por outro lado células que se dividiriam, no seu desenvolvimento normal, param de se dividir.

Estudos mostraram que os embriões de *B. glabrata* tratados com cafeína tiveram retardo no desenvolvimento; resultados similares foram obtidos com o inseto *Telmatoscopus albipunctatus* (Sehgal, Simões & Jurand, 1977).

Podem-se sumariar as principais anomalias obtidas pela cafeína em embriões de *B. glabrata*:

- retardo na clivagem de algumas células, ou uma divisão alterada, causando assimetria nas placas cefálicas;
- vesícula cerebral formada por 13 células;
- presença de células supernumerárias na placa apical;
- ocorrência de malformações cefálicas tais como: monoftalmia destra ou sinistra e duplicação de um dos olhos, direita ou esquerda;
- formação de exogástrula (a não formação da gástrula).

Foi interessante verificar que a cafeína atuou na mortalidade, em estádios mais iniciais do desenvolvimento embrionário de *B. glabrata* (Kawano, Chaves & Simões, 1979), ou seja, em estádios de intensa divisão celular; em oposição aos embriões tratados com sulfato de nicotina (Kawano, Simões & Marques, 1993), cuja substância atuou em estádios mais avançados da diferenciação celular, como na gástrula e na trocófora jovem. As anomalias cefálicas foram obtidas com o sulfato de nicotina, quando os embriões foram submetidos ao tratamento no estádio entre a quarta clivagem e a blástula.

Figura 2-31

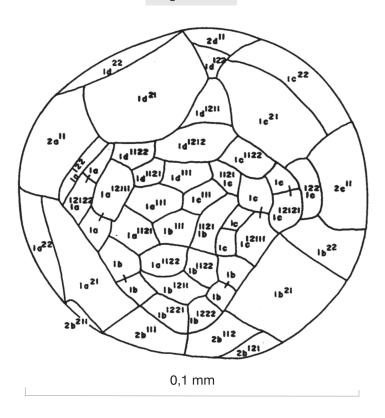
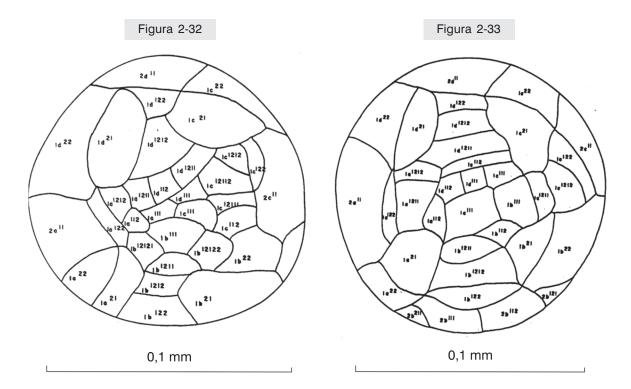
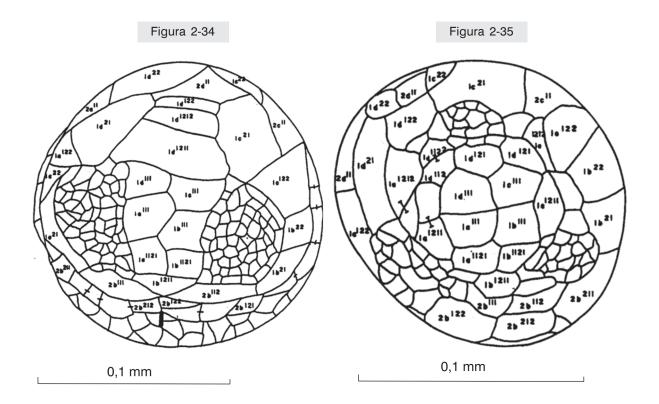
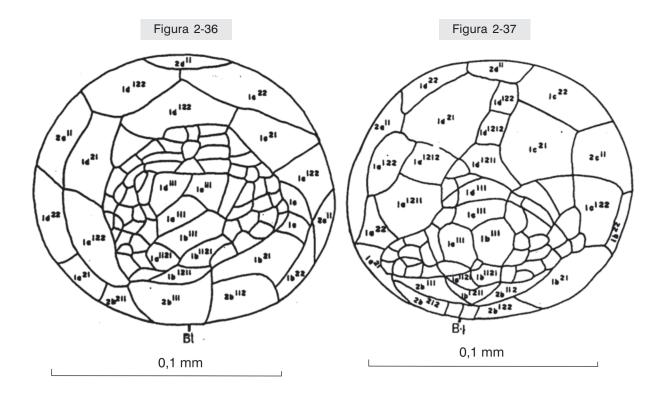
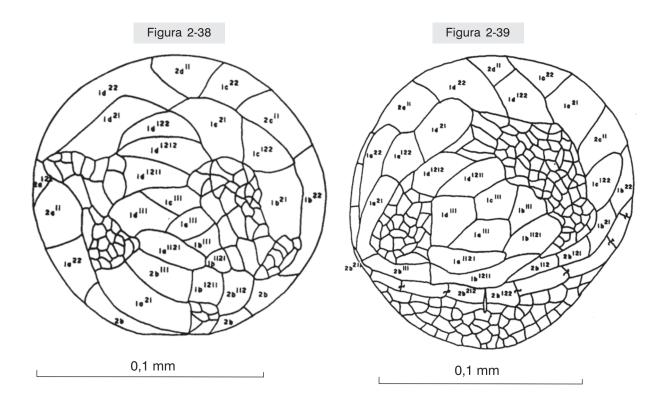
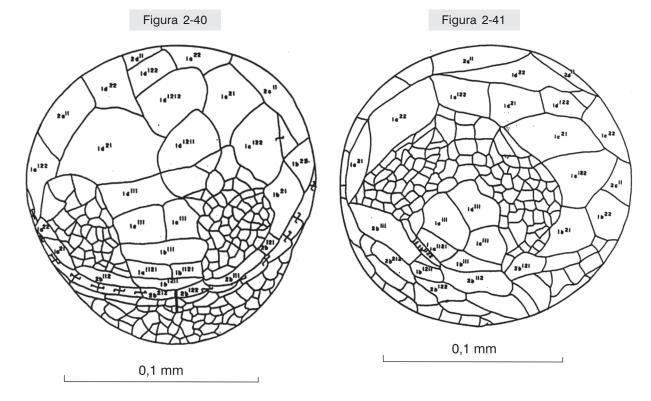
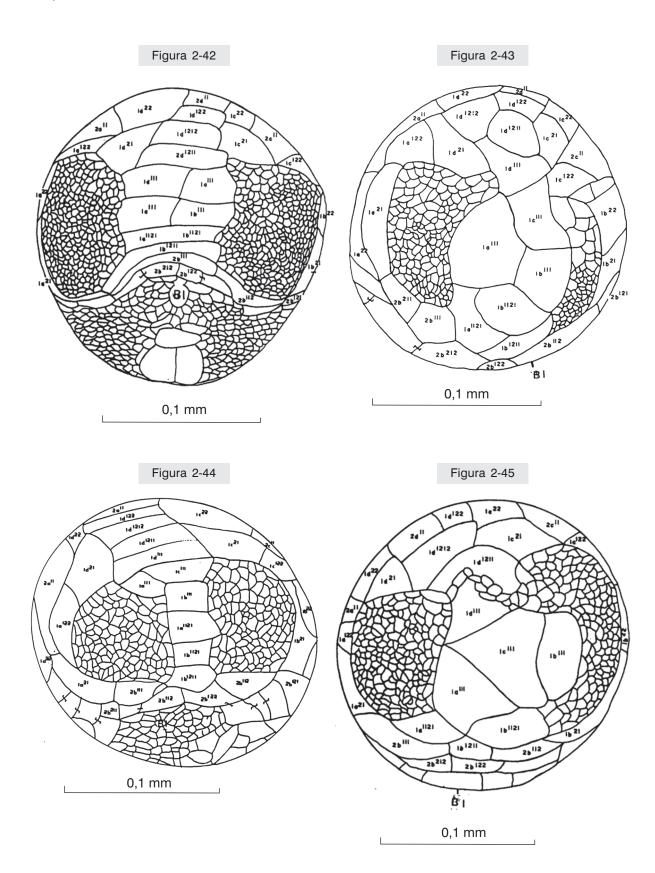
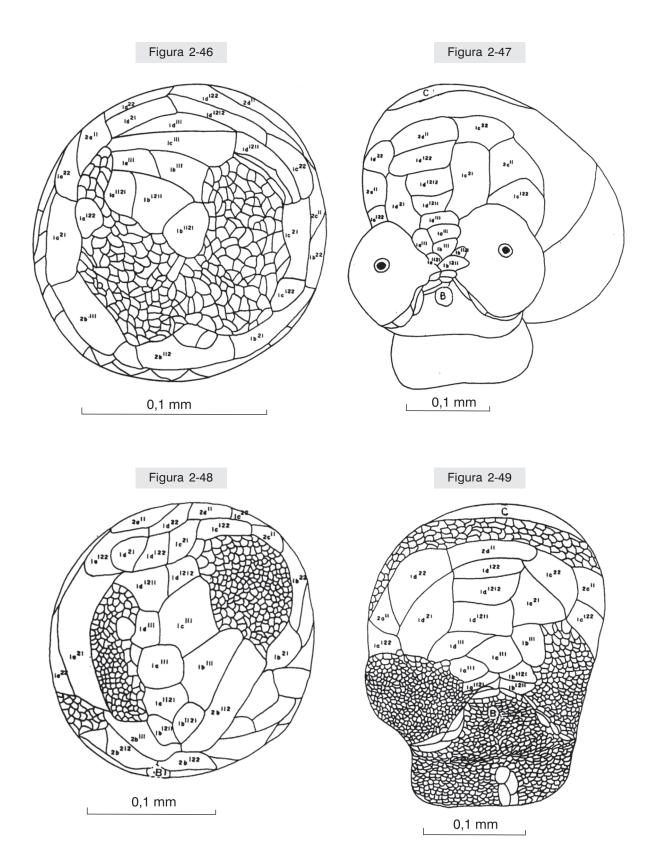



Figura 2-32

Figura 2-33

Figura 2-34

Figura 2-35

Figura 2-36

Figura 2-37

Figura 2-38

0,1 mm

Figura 2-39

0,1 mm

Figura 2-42
B1
0,1 mm
Figura 2-43
B1
0,1 mm
Figura 2-44
B1
0,1 mm
Figura 2-45
B1
0,1 mm

Figura 2-46

Figura 2-47

Figura 2-48

Figura 2-49

Figura 2-50

0,1 mm

Figura 2-51

0,1 mm

Figura 2-52

0,1 mm

Figura 2-53

0,1 mm

Figura 2-54

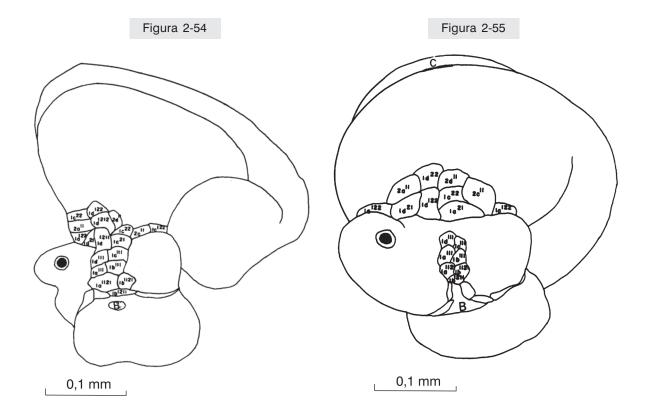
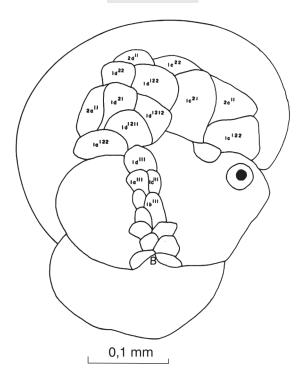



Figura 2-55

Figura 2-56

Malformações Embrionárias como Biomarcadores de Mutagenicidade: o teste do letal dominante em *Biomphalaria glabrata* para o biomonitoramento de poluentes mutagênicos

Águas poluídas são, geralmente, misturas complexas de muitas substâncias químicas, mas a análise de algumas fontes de poluição mostrou que agentes mutagênicos estão presentes em muitas delas (Claxton, Houk & Hughes, 1998; White & Rasmussen, 1998).

A contaminação ambiental por poluentes mutagênicos traz riscos tanto para os ecossistemas como para o homem, já que esses compostos podem danificar o material genético de qualquer organismo. Entretanto, os efeitos da indução de mutações têm significados diferentes em ecotoxicologia e toxicologia (Wurgler & Kramers, 1992). O desenvolvimento de neoplasias por indução de mutações somáticas levará à perda de alguns indivíduos, o que não será um evento crítico para a manutenção da maioria das populações naturais expostas. Já mutações germinativas podem levar à perda de gametas, morte fetal e malformações embrionárias, afetando diretamente o potencial reprodutivo (Depledge, 1998). Portanto, se para a toxicologia humana são indesejados tanto os efeitos somáticos quanto os germinativos da indução de mutações, a proteção dos ecossistemas contra a ação de mutagênicos ambientais requer preferencialmente o desenvolvimento de testes que detectem mutações germinativas.

Invertebrados têm sido utilizados em alguns estudos de monitoramento de poluentes mutagênicos (Nacci et al., 1992; Burgeot, His & Galgani, 1995; Steinert et al., 1998). A maior parte dos estudos de biomonitoramento *in situ*, entretanto, tem sido feita em peixes e, na sua maioria, em espécies marinhas. Levando-se em conta, ainda, a importância ecológica dos invertebrados, que representam cerca de 90% das espécies aquáticas (Barnes, 1990), existe uma carência de dados sobre o efeito de poluentes mutagênicos em invertebrados de água doce.

Caramujos do gênero *Biomphalaria* podem ser considerados bons bioindicadores para estudos de biomonitoramento. O gênero tem ampla distribuição geográfica; é representado no Brasil por dez espécies distribuídas por todos os estados (Carvalho, 1992), é de fácil coleta e baixa dispersão. Além disso, outras vantagens fazem desse sistema um bom modelo para estudos em laboratório. Os caramujos são fáceis de criar e requerem pouco espaço; sob condições controladas, podem se reproduzir durante todo o ano. Possuem um ciclo de vida relativamente curto: um acompanhamento de ovo a ovo, ou seja, do início do desenvolvimento até a reprodução pode ser feito em dois meses em *B. glabrata* e, sendo o gênero hermafrodita, diferenças entre os sexos não ocorrem.

Embriões de *Biomphalaria* constituem um bom sistema experimental, que tem sido empregado em vários estudos toxicológicos, utilizando como biomarcadores a mortalidade e as malformações embrionárias. Já foram estudadas substâncias como o sulfato de nicotina, que induziu malformações em embriões de *B. glabrata* (Kawano, Simões & Marques, 1993); extratos vegetais, como os extratos de *Gomphrena macrocephala, Holocalix glaziovii* e *Riedeliella graciflora* (Yamamoto et al., 1996), em *Stevia rebaudiana* (Kawano & Simões, 1986) e em *Laurus nobilis* (Ré & Kawano, 1987); bem como agentes mutagênicos como a cafeína e a radiação gama: a cafeína induziu malformações (Kawano, Chaves & Simões, 1979) e a radiação gama, aberrações cromossômicas e malformações em embriões de *B. glabrata* (Okazaki & Kawano, 1991).

Malformações embrionárias podem ser usadas como biomarcador em testes de mutagenicidade, já que são um dos efeitos da indução de mutações em células germinativas. Para utilizar apropriadamente esse biomarcador, é necessário, entretanto, poder se distinguir as malformações induzidas por efeitos mutagênicos nas células germinativas daquelas induzidas por efeitos tóxicos ou teratogênicos. Para isso, é possível usar uma estratégia similar à do teste do letal dominante em roedores, que detecta mutações em células germinativas (Bateman, 1966). Nessa técnica, ratos ou camundongos machos são expostos à

substância-teste e cruzados com fêmeas não tratadas, que são sacrificadas a meio termo da prenhez, quando são contados os embriões mortos. As mutações letais dominantes resultam de aberrações cromossômicas que, embora não afetem a viabilidade dos gametas, são letais para o embrião.

A adaptação dessa técnica para a *Biomphalaria* leva em conta o fato de que o animal é hermafrodita simultâneo e a reprodução se dá tanto por auto-fecundação como por fecundação cruzada (Paraense, 1955); assim, são produzidos os dois tipos de embriões (Figuras 7 e 8). Para identificar os resultantes de fecundação cruzada, o albinismo foi empregado como marcador genético: caramujos selvagens homozigotos tratados são cruzados com albinos não tratados (Figuras 9 e 10). Para identificar os resultantes de fecundação cruzada, o albinismo foi empregado como marcador genético: caramujos selvagens homozigotos tratados são cruzados com albinos não tratados. Os efeitos observados nos embriões heterozigotos resultam, certamente, de mutações induzidas nos espermatozóides dos selvagens expostos. O indicador usado no teste do letal dominante em *Biomphalaria* foram as malformações embrionárias inespecíficas (Figura 11), que afetam múltiplas estruturas e acabam por levar à morte do embrião, assim, mutações que causam esse tipo de malformação são mutações letais.

Foram estudados nesse sistema, no teste do letal dominante, a mitomicina C, a ciclofosfamida e a radiação ionizante, agentes mutagênicos de referência (Nakano et al., 2003; Tallarico et al., 2004).

A ciclofosfamida, uma mostarda nitrogenada utilizada principalmente como antineoplásico, foi empregada como modelo de mutagênico indireto. Relativamente inativa do ponto de vista biológico, é convertida pelas enzimas do sistema citocromo P_{450} hepático em seu metabólito ativo, a mostarda de fosforamida, que se liga covalentemente ao DNA por substituição nucleofílica (Korolkovas & Burckhalter, 1988; Calabresi & Chabner, 1990). No teste do letal dominante em *B. glabrata*, a ciclofosfamida induziu mutações germinativas nos estádios mais avançados da gametogênese. Esses resultados foram compatíveis com os de estudos em células germinativas de roedores (Anderson et al., 1995).

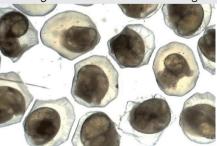
Figura 7 – Desova de caramujo albino *B. glabrata* cruzado com selvagem

Embriões selvagens e albinos.

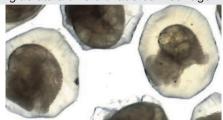
Figura 8 – Desova de caramujo *B. glabrata* albino cruzado com selvagem – detalhe da Figura 7

Embrião selvagem mostrando olho pigmentado.

Figura 9 – Caramujo *B. glabrata* adulto albino

Figura 10 – Caramujo *B. glabrata* adulto selvagem

Figura 11 – Embriões de *B. glabrata* com malformações inespecíficas

Embriões malformados – seta indicando olho pigmentado em embrião selvagem.

A mitomicina C, antibiótico isolado de *Streptomyces caespitosus* utilizado como antineoplásico, foi empregada como modelo de mutagênico direto, isto é, que não requer ativação metabólica. Um efeito específico da mitomicina C é a indução de freqüências mais altas de mutações letais dominantes nos estágios pré-meióticos da gametogênese, o que é atribuído à interferência com a síntese de DNA em doses baixas (Witt & Bishop, 1996). Em *B. glabrata*, o efeito letal dominante da mitomicina C em concentrações não tóxicas foi detectado nas células germinativas em estágios precoces da gametogênese; esse resultado foi similar ao observado em roedores (Ehling, 1971).

A radiação ionizante tem sido empregada nos estudos de mutagênese como o principal modelo de agente direto. Sua atividade genotóxica (causar danos ao DNA) não sofre interferência de fatores farmacocinéticos, já que não requer absorção, distribuição ou metabolismo; assim, pode-se considerar que

a radiação age direta e instantaneamente no DNA. A partir daí, as respostas obtidas da exposição à radiação podem ser usadas para inferir alguns parâmetros cinéticos de mutagênicos químicos, como o período de latência e a meia-vida da atividade mutagênica efetiva. No caso de certos compostos, como aqueles que requerem ativação metabólica, com mecanismo de ação desconhecido ou com tempo de ação muito curto ou muito longo, essas informações podem complementar aquelas obtidas dos estudos farmacocinéticos, muitas vezes limitados pela dificuldade de interpretação dos resultados e pela complexidade da correlação entre a farmacocinética do composto e a sua atividade genotóxica (Morales-Ramírez et al., 1997).

Estudos de radiossensibilidade de células germinativas mostram que o efeito mutagênico da radiação ionizante sobre a gametogênese é inespecífico. Como conseqüência, a radiação é capaz de induzir mutações letais dominantes em células gametogênicas em todos os estágios (Mandl, 1964; Ehling, 1971; Egami, Shimada & Hama-Furukawa, 1983).

A eficiência da indução de mutações letais dominantes pela radiação ionizante depende do estágio da gametogênese. Essa sensibilidade diferencial é atribuída às características do processo: o desenvolvimento das células germinativas se caracteriza por alterações bioquímicas correlacionadas com a diferenciação morfológica; assim, as células nos diferentes estágios constituem populações distintas (Ehling, 1971).

Em geral, células nos estágios pré-meióticos da gametogênese são menos sensíveis à indução de mutações letais que as células nos estágios pós-meióticos. Esse efeito é atribuído a dois fatores: as células gametogênicas jovens – mitoticamente ativas – têm maior capacidade de reparo do dano ao DNA em doses subletais; e ocorre eliminação seletiva das células danificadas – é o chamado efeito citotóxico da radiação. Esse padrão de resposta é altamente conservado desde em fungos e plantas até em animais superiores (Mandl, 1964).

Em contraste com a radiação ionizante, mutagênicos químicos têm perfis diferentes de indução de mutações germinativas (Witt & Bishop, 1996). Um estudo comparativo com vários agentes em roedores mostrou que, enquanto o efeito da radiação ionizante é inespecífico, mutagênicos químicos interferem em diferentes processos bioquímicos da gametogênese. Assim, em contraste com a radiação ionizante, os mutagênicos químicos induzem mutações letais dominantes de forma estágio-específica.

A resposta da espermatogênese em *B. glabrata* à radiação ionizante seguiu o padrão observado em outros sistemas (Mandl, 1964). A indução de mutações letais dominantes foi maior nas células gametogênicas mais maduras que nas mais jovens. Estas, por sua vez, foram altamente sensíveis ao efeito citotóxico da radiação.

O teste do letal dominante em *B. glabrata* se mostrou eficiente, de fácil execução, baixo custo e sensível na avaliação de mutações germinativas induzidas por agentes mutagênicos de referência. Do estudo realizado com a ciclofosfamida e a mitomicina C, foi possível concluir que *B. glabrata* é capaz de absorver e de ativar metabolicamente compostos mutagênicos presentes no ambiente aquático. Dos resultados obtidos com a radiação ionizante foi possível estimar alguns parâmetros da espermatogênese em *B. glabrata*. Esses dados serão necessários no estabelecimento dos tempos de cruzamento e na interpretação de resultados obtidos da análise de amostras ambientais, geralmente misturas complexas de muitas substâncias químicas. A demonstração da sua capacidade de detecção de agentes mutagênicos diretos e indiretos sem a necessidade de adição de sistemas de ativação metabólica capacita o teste para o monitoramento de compostos mutagênicos ambientais, levando-se em conta que muitos desses poluentes são mutagênicos indiretos.

PERSPECTIVAS

Atualmente poucas pesquisas na área de embriologia de moluscos são conhecidas, uma razão para a realização deste estudo em diferentes espécies, descrevendo detalhes de embriões com desenvolvimento normal para ser comparado com aqueles malformados tratados com algum agente químico ou físico. Eis a embriologia das principais espécies estudadas: *Biomphalaria glabrata, B. tenagophila, B. straminea* (Mollusca Planorbidae)*, Pomacea lineata* (Mollusca, Caenogastropoda) e *Perna perna* (Mollusca, Bivalvia. Com a recente aquisição do microscópio de varredura *laser* confocal Zeiss 510 Meta, abrem-se novos horizontes para a análise mais acurada dos diferentes estádios embrionários de diferentes moluscos.

Aplicações

O teste do letal dominante em *B. glabrata* (já validado) é proposto como modelo a ser usado em estudos de biomonitoramento ambiental, tornando-se uma ferramenta valiosa na avaliação do impacto ambiental dos poluentes mutagênicos.

REFERÊNCIAS

ANDERSON, D. et al. Cyclophosphamide: review of its mutagenicity for an assessment of potential germ cell risks. *Mutation Research*, 330: 115-181, 1995.

ANDREW, L. E. The mutagenic activity of caffeine in *Drosophila*. *American Naturalist*, 93: 135-138, 1959.

BARNES, R. D. *Zoologia dos Invertebrados*. 4. ed. São Paulo: Livraria Rocca, 1990.

BATEMAN. A. J. Testing chemicals for mutagenicity in a mammal. *Nature*, 5.032: 205-206, 1966.

BOON-NIERMEIJER, E. K. *Responses of a Developing Organism Upon Heat Stress*, 1987. PhD. Thesis, Utrecht: University of Utrecht.

BURGEOT, T.; HIS, E. & GALGANI, F. The micronucleus assay in *Crassosstrea gigas* for the detection of seawater genotoxicity. *Mutation Research*, 342: 125-140, 1995.

CALABRESI, P. & CHABNER, B. A. Fármacos Antineoplásicos. In: GOODMAN, L. S. & GILMAN, A. (Eds.) *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. New York: MacMillan, 1990.

CAMEY, T. *Estágios Iniciais do Desenvolvimento Embrionário de* Biomphalaria glabrata (Say, 1818), 1968. Tese de Doutorado, Belo Horizonte: Faculdade Filosofia, Universidade Federal de Minas Gerais.

CAMEY, T. & VERDONK, N. H. The early development of the snail *Biomphalaria glabrata* (Say) and the origin of the head organs. *Netherland Journal of Zoology*, 20(1): 93-121, 1970.

CARVALHO, O. S. Intermediate hosts of *Schistosoma mansoni* in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87, supl. IV: 307-309, 1992.

CLAXTON, L. D.; HOUK, V. S. & HUGHES, T. J. Genotoxicity of industrial wastes and effluents. *Mutation Research*, 410: 237-242, 1998.

CONKLIN, E. G. The embryology of *Crepidula*. *Journal of Morphology*, 1: 1-226, 1897.

CRAMPTON, H. E. Reversal of cleavage in a sinistral gastropod. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 8: 167, 1894.

DEPLEDGE, M. H. The ecological significance of genotoxicity in marine invertebrates. *Mutation Research*, 399:109-122, 1998.

EGAMI, N.; SHIMADA, A. & HAMA-FURUKAWA, A. Dominant lethal mutation rate after l-irradiation of the fish *Oryzias latipes*. *Mutation Research*, 107: 265-277, 1983.

EHLING, U. H. Comparison of radiation and chemically-induced dominant lethal mutations in male mice. *Mutation Research*, 11: 35-44, 1971.

GEILENKIRCHEN, W. L. M. Cell division and morphogenesis of *Limnaea* eggs after treatment with heat pulses at successive stages in early division cycles. *Journal of Embryology and Experimental Morphology*, 16(2): 321-337, 1966.

GILBERT, F. S. *Developmental Biology*. 4. ed. Massachusetts, Sunderland: Sinauer Associates, 1994.

HOLMES, S. J. The early development of *Planorbis. Journal of Morphology*, 16(2): 369-458, 1900.

KAWANO, T. & SIMÕES, L. C. G. Efeito da *Stevia rebaudiana* em *Biomphalaria glabrata*. *Revista Brasileira de Biologia*, 46(3): 555-562, 1986.

KAWANO, T. & SIMÕES, L. C. G. Morphogenetic effects of caffeine on *Biomphalaria glabrata* (Pulmonata, Planorbidae). *Proceedings of the Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen*. *Series C*, 90(3): 281-302, 1987.

KAWANO, T.; CHAVES, W. R. & SIMÕES, L. C. G. Effects of caffeine on embryonic development of *Biomphalaria glabrata*. *Ciência e Cultura*, 31(11): 1.266-1.273, 1979.

KAWANO, T.; SIMÕES, L. C. G. & MARQUES, J. *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818): efeitos morfogenéticos do sulfato de nicotina. *Revista Brasileira de Biologia*, 53(4): 539-547, 1993.

KIHLMAN, B, A. *Caffeine and Chromosomes*. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Co., 1977.

KOROLKOVAS, A. & BURCKHALTER, J. H. *Química Farmacêutica*. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988.

LONGO, F. J. Ultrastructural aspects of fertilization in spiralian eggs. *American Zoologist*, 16: 375-394, 1976.

MANDL, A. M. The radiosensitivity of germ cells. *Biological Reviews*, 391: 127-134, 1964.

MITTLER, S.; MITTLER, J. E & OWENS, S. L. Loss of chromosomes and non-disjunction induced by caffeine in *Drosophila*. *Nature*, 214: 424, 1967.

MORALES-RAMÍREZ, P. et al. Pharmacokinetic parameters of genotoxic activity inferred from the comparison of the kinetics of MN-PCE induced by chemical agents and ionizing radiation. *Mutation Research*, 391: 127-134, 1997.

NACCI, D. et al. Application of DNA alkaline unwinding assay to detect DNA strand breaks in marine bivalves. *Marine Environmental Research*, 33: 83-100, 1992.

NAKANO, E. et al. Establishment of the dominant lethal test in the freshwater mollusk *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). *Mutation Research*, 536: 145-154, 2003.

NISHIMURA, H. & NAKAI, K. Congenital malformations in offspring of mice treated with caffeine. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 104: 140-142, 1960.

OKAZAKI, K. & KAWANO, T. Cytogenetic effects of ^{60}Co gamma radiation on *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) embryos. *Caryologia*, 44(2):121-136, 1991.

OLIVEIRA, R. S. *Estádios embrionários de* Biomphalaria straminea, 2001. Monografia de Bacharel em Biologia, São Paulo: Universidade Presbiteriana Mackenzie.

PARAENSE, W. L. Auto-fecundação e fecundação cruzada em *Australorbis glabratus*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 53(2, 3, 4): 277-284, 1955.

RAVEN Chr P. The development of the eggs of *Lymnaea stagnalis* L. from ovoposition till first cleavage. *Archives Néerlandaises de Zoologie*, 7: 91-121, 1945.

RAVEN, Chr P. The development of the egg *Lymnaea stagnalis*. L. from the first cleavage till the trochophore stage, with special reference to its "chemical embryology". *Archives Néerlandaises de Zoologie*, 7: 353, 1946.

RAVEN Chr P. On the structure of cyclopic synophthalmic and anophthalmic embryos, obtained by the action of lithium in *Lymnaea stagnalis. Archives Néerlandaises de Zoologie*, 8: 1-30, 1949.

RAVEN Chr P. *Morphogenesis: the analysis of molluscan development*. London, Pergamon Press, 1958.

RAVEN Chr P. et al. The influence of concentration, duration of treatment and stage of development in the lithium- effect upon the development of *Limnaea stagnalis*. *Proceedings of the Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen*, 50 (60): 2-12, 1947.

RÉ, L. & KAWANO, T. Effects of *Laurus nobilis* (Lauraceae) on *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82, supl. IV: 315-320, 1987.

SEHGAL, S. S.; SIMÕES, L. C. G. & JURAND, A. Effects of caffeine on growth and metamorphosis of moth fly *Telmatoscopus albipunctatus* (Diptera, Psycodidae). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 21: 174-181, 1977.

STEINERT, S. A. et al. DNA damage in mussels at sites in San Diego Bay. *Mutation Research*, 399: 65-85, 1998.

TALLARICO, L. F. et al. Dominant lethal effect of ^{60}Co in *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). *Mutation Research*, 561 (1-2): 139-145, 2004.

VERDONK, N. H. *Morphonogenesis of the Head Region in* Lymnaea stagnalis L, 1965. PhD Thesis, Utrecht: University of Utrecht.

VERDONK, N. H. & CATHER, J. N. Morphogenetic determination and differentiation. In: VERDONK, N. H.; VAN DEN BIGGELAAR, J. A. M. & TOMPA, A. S. (Eds.) *The Mollusca Development*. New York: Academic Press, 1983. v. 3.

VERDONK, N. H. & DE GROOT, S. J. Periodic changes in sensitivity of *Limnaea* eggs to a heat shock during early development. *Proceedings of the Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen*, 73(2): 171-185, 1970.

WATANABE, L. C. *Desenvolvimento Embrionário de* Biomphalaria tenagophila *(Orbigny) (Mollusca, Planorbidae)*, 1997. Dissertação de Mestrado, São Paulo: Departamento de Zoologia, Universidade de São Paulo.

WHITE, P. A. & RASMUSSEN, J. B. The genotoxic hazards of domestic wastes in surface waters. *Mutation Research*, 410: 223-236, 1998.

WIERZEJSKI, A. Embryologie von *Physa fontinalis* L. *Zeitschrift für Wissenschartliche Zoologie*, 83: 502, 1905.

WITT, K. L. & BISHOP, J. B. Mutagenicity of anticancer drugs in mammalian germ cells. *Mutation Research*, 355: 209-234, 1996.

WURGLER, F. E. & KRAMERS, P. G. N. Environmental effects of genotoxins (eco-genotoxicology). *Mutagenesis*, 7(5): 321-327, 1992.

YAMAMOTO, M. M. Molluscicidal activity of three Brazilian plant species. *Fitoterapia*, 1(LXVII): 59-62, 1996.

11 Distribuição Espacial de *Biomphalaria glabrata*, *B. straminea* e *B. tenagophila*, Hospedeiros Intermediários de *Schistosoma mansoni* no Brasil

Omar dos Santos Carvalho
Ronaldo S. Amaral
Luciano V. Dutra
Ronaldo G. Carvalho Scholte
Márcio A. Menezes Guerra

Mapa com a distribuição do planorbídeo *Biomphalaria glabrata*, principal hospedeiro intermediário de *Schistosoma mansoni* no Brasil.

Entre as dez espécies e uma subespécie do gênero Biomphalaria reconhecidas no Brasil, somente *B. glabrata*, *B. tenagophila*, *B. straminea* são encontradas, até o momento, naturalmente infectadas por *Schistosoma mansoni*. Outras duas espécies, *B. amazonica* e *B. peregrina*, foram infectadas experimentalmente e são consideradas hospedeiras em potencial de *S. mansoni*. Esses moluscos apresentam diferentes graus de compatibilidade com *S. mansoni*, distribuem-se com características próprias pelo território brasileiro e apresentam importância epidemiológica que varia com a espécie de molusco e a região em que se encontra.

A distribuição desses moluscos vem sendo progressivamente adicionada de novos dados, o que tem alterado significativamente o mapa de distribuição das espécies hospedeiras de *S. mansoni*. O conhecimento da distribuição das três espécies hospedeiras é relevante na delimitação das regiões com risco de introdução ou expansão da esquistossomose, além de contribuir com os serviços de saúde no aprimoramento ou estruturação, de forma mais adequada, das atividades de controle e vigilância da esquistossomose, direcionando ações e economizando recursos. Neste capítulo, a distribuição dos hospedeiros intermediários de *S. mansoni* no Brasil é disponibilizada, utilizando-se ferramentas de geoprocessamento.

DISTRIBUIÇÃO DOS HOSPEDEIROS INTERMEDIÁRIOS DE *Schistosoma mansoni* NO BRASIL

As informações sobre a distribuição dos moluscos do gênero *Biomphalaria* são importantes, uma vez que neste grupo encontram-se os três hospedeiros intermediários de *Schistosoma mansoni* no Brasil: *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea*. Com a adição de novos registros de ocorrência desses moluscos verificou-se um aporte significativo de conhecimento da sua distribuição, de fundamental importância para o planejamento dos programas de controle da doença (Teles, Pereira & Richinitti, 1991).

A distribuição das três espécies hospedeiras intermediárias de *S. mansoni* no Brasil tem sido objeto de inúmeras publicações, umas mais restritas, outras mais abrangentes. O primeiro mapa de distribuição dos vetores de *S. mansoni* no Brasil foi publicado em 1970 (Paraense, 1970) (Figura 1), seguindo-se sucessivas atualizações (Paraense, 1972, 1975, 1986, 2001).

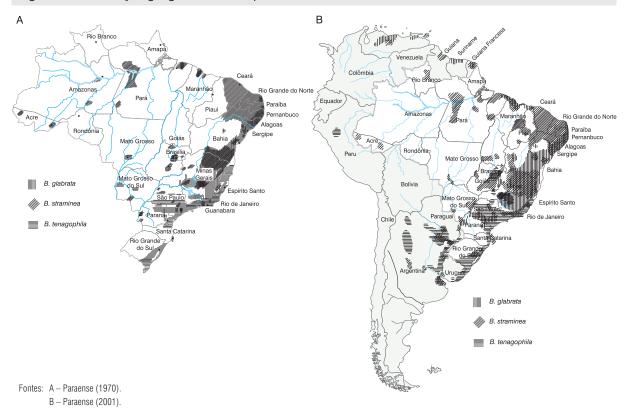



Figura 1 – Distribuição geográfica dos hospedeiros intermediários de *Schistosoma mansoni* no Brasil

Fontes: A – Paraense (1970).
B – Paraense (2001).

Neste capítulo são apresentados dados da distribuição de *B. glabrata*, *B. straminea* e *B. tenagophila* fornecidos pela Gerência de Esquistossomose da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde do Brasil e pelo Laboratório de Helmintoses Intestinais do Centro de Pesquisa René Rachou/Fiocruz.

Esses bancos de dados foram alimentados por numerosas fontes e publicações, das quais algumas merecem destaque pelo volume de informações: Carvalho et al. (1994, 1997, 1998); Piza & Ramos (1960); Schlemper Jr. et al. (1996); Paraense (1970, 1972, 1975, 1986, 2001); Souza et al. (2001); Teles (2005); Thiengo et al. (1998, 2001, 2002a, 2002b, 2004, 2006); Thiengo, Santos & Fernandez (2005); Carvalho,

Scholte & Amaral (2007). Os bancos de dados continham informações relacionadas à ocorrência, por estado e município, de *B. glabrata*, B. *tenagophila* e *B. straminea*. Utilizou-se uma base geográfica dos municípios brasileiros fornecida pela Companhia de Processamento de Dados do Estado de Minas Gerais (Prodemge), para o geoprocessamento dos dados. O *software* utilizado foi o MapInfo versão 6.5. Em função das características da coleta dos dados optou-se pela espacialização, utilizando-se as coordenadas das sedes municipais para representar o município. A distribuição de cada uma das espécies é mostrada em mapa do Brasil e em um ou mais mapas por região geográfica.

Pelo menos uma das três espécies vetoras de *S. mansoni* foi notificada, além do Distrito Federal, em 24 dos 26 estados brasileiros (Tabela 1). Em apenas dois estados não foi registrada, até o momento, a presença daqueles moluscos: Amapá e Rondônia.

Tabela 1 – Presença de moluscos do gênero *Biomphalaria*, hospedeiros intermediários de *Schistosoma mansoni*, por estados e municípios

No. de ordem	Estados	Número de municípios		
		B. glabrata	*B. tenagophila*	*B. straminea*
1	Acre	-	-	2
2	Alagoas	40	-	52
3	Amapá	-	-	-
4	Amazonas	-	-	4
5	Bahia	301	8	411
6	Distrito Federal	1	1	1
7	Ceará	-	-	117
8	Espírito Santo	26	46	15
9	Goiás	2	1	41
10	Maranhão	30	-	39
11	Mato Grosso	-	-	2
12	Mato Grosso do Sul	-	1	2
13	Minas Gerais	192	61	141
14	Pará	7	-	19
15	Paraíba	15	-	76
16	Paraná	67	81	8
17	Pernambuco	21	-	131
18	Piauí	1	-	76
19	Rio Grande do Norte	20	-	77
20	Rio Grande do Sul	1	11	1
21	Rio de Janeiro	8	88	34
22	Santa Catarina	-	59	2
23	São Paulo	25	246	40
24	Sergipe	49	-	30

Tabela 1 – Presença de moluscos do gênero *Biomphalaria*, hospedeiros intermediários de *Schistosoma mansoni*, por estados e municípios (continuação)

No. de ordem	Estados	Número de municípios		
		B. glabrata	*B. tenagophila*	*B. straminea*
25	Tocantins	-	-	3
26	Rondônia	-	-	-
27	Roraima	-	-	1
TOTAL		806	603	1.325

Biomphalaria glabrata

A distribuição de *B. glabrata* está quase sempre associada à distribuição da esquistossomose. A observação desse fato foi mencionada pela primeira vez ainda em 1917: "A distribuição da schistomasiose no Brazil ainda é um problema que convem estudar. Provavelmente corresponderá áquella do *Planorbis olivaceus* (= *B. glabrata*), que é uma espécie do Norte, vivendo em agua doce, mais ou menos estagnada, principalmente em lagoas com vegetação aguatica (Lutz, 1917)".

Um outro fato a ser considerado quando se discute a importância epidemiológica desta espécie é a sua ampla distribuição. De fato, *B. glabrata* foi notificada em 16 estados brasileiros (Alagoas, Bahia, Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Pará, Paraíba, Paraná, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, São Paulo, Sergipe), além do Distrito Federal, e em 806 municípios em uma área delimitada pelos paralelos 0º 53'S (Quatipuru, PA) e 29º 51'S (Esteio, RS) e 53º 44'S (Toledo, PR) e a linha costeira (Figuras 2, 6, 8, 11, 12). A área central de sua distribuição corresponde, principalmente, às mesorregiões Nordeste, Centro Norte Baiano, Metropolitana de Salvador, Centro Sul Baiano e Sul Baiano, no estado da Bahia, e às mesorregiões Norte de Minas, Jequitinhonha, Central Mineira, Vale do Mucuri, Vale do Rio Doce, Metropolitana de Belo Horizonte e Zona da Mata, no estado de Minas Gerais. Ocorre na metade oeste do estado do Espírito Santo, correspondendo às mesorregiões Noroeste Espírito-Santense, Central Espírito-Santense e Sul Espírito-Santense. A partir daí a espécie pode ser encontrada, de forma quase contínua, para o norte, numa faixa costeira que compreende os estados de Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte. Está ausente no estado do Ceará e apenas uma população é reportada no estado do Piauí. No estado do Maranhão são encontradas várias populações distribuídas pelo interior e litoral. No estado do Pará a espécie atinge o limite norte de sua distribuição no município de Quatipuru (0º:53':58"S). A espécie é encontrada no estado de São Paulo com uma aglomeração junto à divisa com o Paraná.

Na região Sul, *B. glabrata* ocorre no estado do Paraná, com um aglomerado na divisa com o estado de São Paulo. Está ausente no estado de Santa Catarina, enquanto no estado do Rio Grande do Sul encontra-se uma única população, no município de Esteio (29º:51':07"S), extremo sul de sua distribuição (Carvalho, Nunes & Caldeira, 1998). A presença dessa espécie na região metropolitana de Porto Alegre representa um salto, na sua distribuição, de cerca de 500 km em relação a Curitiba (estado do Paraná), município mais ao sul do Brasil, onde era conhecida a presença de *B. glabrata*. Um ano após a observação

dessa espécie na grande Porto Alegre é relatado, no município de Esteio, o foco de esquistossomose mais meridional no Brasil (Graeff-Teixeira et al., 1999). Anteriormente o foco da doença mais ao sul, já registrado, era o de São Francisco do Sul, em Santa Catarina (Bernardini & Machado, 1981). Estas observações são relevantes, uma vez que *B. glabrata* pode alcançar outras regiões do sul do Brasil ou mesmo países vizinhos como Argentina, Paraguai e Uruguai, até o momento livres da doença.

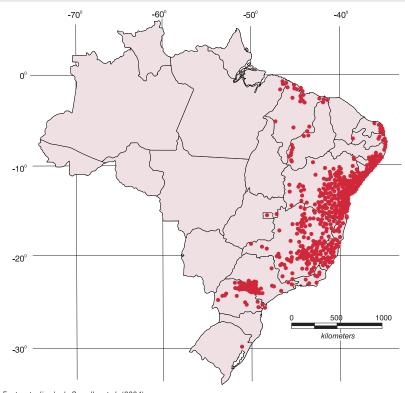



Figura 2 – Distribuição espacial da *Biomphalaria glabrata*

Fonte: atualizado de Carvalho et al. (2004).

Ocorrência de *Biomphalaria glabrata* por municípios

- **Alagoas**

Arapiraca, Atalaia, Belém, Boca da Mata, Cajueiro, Capela, Coité do Nóia, Coruripe, Girau do Ponciano, Igaci, Jacuípe, Jundiá, Junqueiro, Lagoa da Canoa, Limoeiro de Anadia, Maceió, Maragogi, Marechal Deodoro, Maribondo, Mar Vermelho, Matriz de Camaragibe, Murici, Palmeira dos Índios, Passo de Camaragibe, Paulo Jacinto, Penedo, Piaçabuçu, Pilar, Pindoba, Quebrangulo, São José da Laje, São Luís do Quitunde, São Miguel dos Campos, São Sebastião, Satuba, Tanque d'Arca, Traipu, União dos Palmares, Viçosa, Anadia.

- **Bahia**

Abaíra, Acajutiba, Adustina, Água Fria, Aiquara, Alagoinhas, Almadina, Amargosa, Amélia Rodrigues, América Dourada, Anagé, Andaraí, Andorinha, Angical, Anguera, Antônio Cardoso, Antônio Gonçalves, Aporá, Apuarema, Araças, Aramari, Aratuípe, Aurelino Leal, Baianópolis, Baixa Grande, Banzaê, Barra da Estiva,

Barra do Choça, Barra do Rocha, Barreiras, Belo Campo, Biritinga, Boa Nova, Boa Vista do Tupim, Bom Jesus da Serra, Boninal, Bonito, Brejões, Brumado, Buerarema, Caatiba, Cabaceiras do Paraguaçu, Cachoeira, Caculé, Caém, Caetanos, Caetité, Caldeirão Grande, Camaçari, Camamu, Campo Alegre de Lourdes, Campo Formoso, Canavieiras, Candeal, Candeias, Cândido Sales, Capela do Alto Alegre, Capim Grosso, Caraíbas, Cardeal da Silva, Castro Alves, Catolândia, Catu, Caturama, Cipó, Coaraci, Cocos, Conceição da Feira, Conceição do Almeida, Conceição do Coité, Conceição do Jacuípe, Conde, Condeúba, Contendas do Sincorá, Coração de Maria, Cordeiros, Coribe Carinhanha, Cravolândia, Crisópolis, Cristópolis, Cruz das Almas, Dário Meira, Dias d'Ávila, Dom Macedo Costa, Elísio Medrado, Encruzilhada, Entre Rios, Esplanada, Eunápolis, Feira de Santana, Filadélfia, Firmino Alves, Floresta Azul, Gandu, Gavião, Glória, Gongogi, Governador Mangabeira, Guajeru, Guanambi, Guaratinga, Heliopólis, Iaçu, Ibiassucê, Ibicoara, Ibicuí, Ibiquera, Ibirapitanga, Ibirapua, Ibirataia, Ibitiara, Ichu, Igrapiuna, Iguaí, Ilhéus, Inhambupe, Ipecaeta, Ipiaú, Ipirá, Irajuba, Iramaia, Iraquara, Irará, Irecê, Itaberaba, Itabuna, Itacaré, Itaeté, Itagi, Itagibá, Itaju do Colônia, Itajuípe, Itamari, Itambé, Itanagra, Itanhém, Itaparica, Itapé, Itapetinga, Itapicuru, Itapitanga, Itaquara, Itarantim, Itatim, Itiruçu, Itiúba, Itororó, Ituaçu, Ituberá, Jacaraci, Jacobina, Jaguaquara, Jaguarari, Jaguaripe, Jandaíra, Jequié, Jeremoabo, Jiquiriçá, Jitaúna, Jucuruçu, Jussari, Jussiape, Lafaiete Coutinho, Lagoa Real, Laje, Lajedinho, Lajedo do Tabocal, Lamarão, Lauro de Freitas, Lençóis, Licínio de Almeida, Livramento do Brumado, Macajuba, Macarani, Madre de Deus, Maetinga, Maiquinique, Mairi, Malhada de Pedras, Manoel Vitorino, Maracás, Maragogipe, Maraú, Marcionílio Souza, Mata de São João, Miguel Calmon, Milagres, Mirangaba, Mirante, Morro do Chapéu, Mortugaba, Mucugê, Mundo Novo, Muniz Ferreira, Muritiba, Mutuipé, Nazaré, Nilo Peçanha, Nova Canaã, Nova Fátima, Nova Ibiá, Nova Itarana, Nova Redenção, Nova Soure, Novo Horizonte, Olindina, Ouriçangas, Ourolândia, Palmeiras, Paripiranga, Pau Brasil, Pé de Serra, Pedrão, Piatã, Pindobaçu, Pintadas, Piraí do Norte, Piripá, Piritiba, Planaltino, Planalto, Poções, Pojuca, Ponto Novo, Potiraguá, Presidente Jânio Quadros, Presidente Tancredo Neves, Quixabeira, Rafael Jambeiro, Riachão do Jacuípe, Ribeira do Amparo, Ribeira do Pombal, Ribeirão do Largo, Rio de Contas, Rio do Pires, Rio Real, Ruy Barbosa, Salvador, Santa Bárbara, Santa Cruz da Vitória, Santa Inês, Santa Luzia, Santa Maria da Vitória, Santa Teresinha, Santaluz, Santanópolis, Santo Amaro, Santo Antônio de Jesus, Santo Estevão, São Desidério, São Domingos, São Felipe, São Félix, São Francisco do Conde, São Gonçalo dos Campos, São José da Vitória, São José do Jacuípe, São Miguel das Matas, São Sebastião do Passé, Sapeaçu, Sátiro Dias, Saubara, Saúde, Seabra, Senhor do Bonfim, Sento Sé, Serra Preta, Serrinha, Serrolândia, Simões Filho, Sítio do Quinto, Souto Soares, Tabocas do Brejo Velho, Tanhaçu, Tanquinho, Taperoá, Tapiramutá, Teodoro Sampaio, Teolândia, Terra Nova, Tremedal, Tucano, Ubaíra, Ubaitaba, Ubatã, Umburanas, Uruçuca, Utinga, Valença, Valente, Várzea da Roça, Várzea do Poço, Várzea Nova, Varzedo, Vera Cruz, Vereda, Vitória da Conquista, Wagner, Wenceslau Guimarães, Xique-Xique.

- **Distrito Federal**

Brasília.

- **Espírito Santo**

Afonso Cláudio, Água Doce do Norte, Águia Branca, Alfredo Chaves, Baixo Guandu, Barra de São Francisco, Castelo, Colatina, Conceição da Barra, Conceição do Castelo, Divino de São Lourenço, Ecoporanga, Guaçuí, Itaguaçu, Itarana, Iúna, Mantenópolis, Mimoso do Sul, Montanha, Mucurici, Muniz Freire, Nova Venécia, Pancas, Santa Teresa, São Gabriel da Palha, São Mateus.

- **Goiás**

Formosa, Gouvelândia.

- **Maranhão**

Alcântara, Araioses, Bacuri, Barra do Corda, Cândido Mendes, Cururupu, Godofredo Viana, Paço do Lumiar, Parnarama, Passagem Franca, Pastos Bons, Pinheiro, Santa Luzia do Paruá, São Bento, São Bernardo, São João dos Patos, São José de Ribamar, São Luís, Turiaçu, Tutóia, Anajatuba, Barreirinhas, Bequimão, Mirinzal, Palmeirândia, Peri Mirim, Ribamar Fiquene, São João Batista, São Vicente Ferrer, Viana.

- **Minas Gerais**

Antônio Dias, Araçaí, Araxá, Arcos, Baldim, Bambuí, Barão de Cocais, Barbacena, Belo Horizonte, Betim, Bocaiúva, Bom Jesus do Galho, Brasília de Minas, Braúnas, Brumadinho, Buenópolis, Caeté, Campanário, Campanha, Capim Branco, Caraí, Caranaíba, Caratinga, Catas Altas da Noruega, Claro dos Poções, Coluna, Comercinho, Conceição da Aparecida, Conceição do Mato Dentro, Conselheiro Lafaiete, Conselheiro Pena, Contagem, Coração de Jesus, Cordisburgo, Corinto, Coronel Fabriciano, Curvelo, Diamantina, Dionísio, Divino, Divinolândia de Minas, Divinópolis, Dom Joaquim, Dores do Indaiá, Doresópolis, Engenheiro Caldas, Engenheiro Navarro, Entre Folhas, Esmeraldas, Espinosa, Ferros, Florestal, Formiga, Fortaleza de Minas, Francisco Sá, Frei Inocêncio, Galiléia, Governador Valadares, Guanhães, Iapu, Ibiaí, Ibiracatu, Ibirite, Igarapé, Inhapim, Inhaúma, Inimutaba, Itabira, Itabirinha de Mantena, Itacarambi, Itajubá, Itambacuri, Itanhomi, Itaúna, Itinga, Itueta, Jaboticatubas, Jacinto, Jaguaraçu, Jampruca, Janaúba, Januária, Japonvar, Jequitaí, Jequitinhonha, Joaíma, João Monlevade, Juiz de Fora, Lagoa da Prata, Lagoa dos Patos, Lagoa Santa, Lontra, Lajinha, Machacalis, Malacacheta, Mamonas, Manga, Manhuaçu, Mantena, Mariana, Marliéria, Mateus Leme, Matipó, Matozinhos, Medina, Mesquita, Mirabela, Montalvânia, Monte Alegre de Minas, Montes Claros, Mutum, Nacip Raydan, Nova Era, Nova Lima, Nova União, Novo Cruzeiro, Ouro Branco, Ouro Preto, Pains, Papagaios, Pará de Minas, Paracatu, Paraopeba, Passos, Peçanha, Pedra Azul, Pedro Leopoldo, Piau, Piedade de Ponte Nova, Pirapetinga, Pirapora, Pitangui, Pocrane, Ponte Nova, Porteirinha, Resplendor, Ribeirão das Neves, Rio Acima, Rio Casca, Rio Doce, Rio Novo, Rio Pardo de Minas, Rio Piracicaba, Rio Vermelho, Rubelita, Sabará, Sabinópolis, Sacramento, Salinas, Salto da Divisa, Santa Bárbara, Santa Luzia, Santa Maria de Itabira, Santa Maria do Suaçuí, Santana do Riacho, Santo Antônio do Grama, São Gonçalo do Abaeté, São João da Ponte, São João del Rei, São João do Paraíso, São João Evangelista, São Pedro do Suaçui, São Romão, São Sebastião do Rio Preto, Sapucaí-Mirim, Sete Lagoas, Tabuleiro, Tapira, Taquaraçu de Minas, Tarumirim, Teófilo Otoni, Timóteo, Tumiritinga, Ubá, Ubaí, Uberlândia, Varzelândia, Vespasiano, Viçosa, Virgolândia, Santa Cruz do Escalvado, Santana do Manhuaçu, Taiobeiras, Ponto dos Volantes.

- **Pará**

Belém, Bragança, Capanema, Irituia, Primavera, Quatipuru, Viseu.

- **Paraíba**

Alhandra, Bananeiras, Bayeux, Belém, Cabedelo, Cajazeiras, Conde, Cruz do Espírito Santo, João Pessoa, Lucena, Mataraca, Pirpirituba, Pitimbu, Santa Rita, Serraria.

- **Paraná**

Abatiá, Alvorada do Sul, Andirá, Apucarana, Assaí, Bandeirantes, Barra do Jacaré, Cambará, Cambé, Campina Grande do Sul, Carlópolis, Centenário do Sul, Cerro Azul, Colorado, Congonhinhas, Conselheiro

Mairinck, Cornélio Procópio, Curitiba, Florestópolis, Formosa do Oeste, Goioerê, Guapirama, Ibaiti, Ibiporã, Imbituva, Itambaracá, Ivaí, Jaboti, Jacarezinho, Japira, Jardim Alegre, Jataizinho, Joaquim Távora, Jundiaí do Sul, Leópolis, Londrina, Marialva, Maringá, Moreira Sales, Nova América da Colina, Nova Fátima, Paranaguá, Pinhalão, Porecatu, Primeiro de Maio, Quatiguá, Rancho Alegre, Ribeirão Claro, Ribeirão do Pinhal, Rolândia, Salto do Itararé, Santa Amélia, Santa Cecília do Pavão, Santa Mariana, Santana do Itararé, Santo Antônio da Platina, Santo Antônio do Paraíso, São José da Boa Vista, São Sebastião da Amoreira, Sarandi, Sertaneja, Sertanópolis, Siqueira Campos, Toledo, Tomazina, Urai, Wenceslau Braz.

- **Pernambuco**

Agrestina, Água Preta, Bom Conselho, Brejão, Canhotinho, Correntes, Garanhuns, Goiana, Ilha de Itamaracá, Jaboatão, Lagoa dos Gatos, Maraial, Olinda, Palmeirina, Paulista, Quipapá, Recife, Saloá, São Benedito do Sul, São João, Terezinha.

- **Piauí**

Parnaíba.

- **Rio Grande do Norte**

Arês, Baía Formosa, Brejinho, Canguaretama, Ceará-Mirim, Espírito Santo, Extremoz, Goianinha, Macaíba, Maxaranguape, Monte Alegre, Natal, Nísia Floresta, Parnamirim, Pedro Velho, Pureza, São Bento do Norte, São Gonçalo do Amarante, São José de Mipibu, Touros.

- **Rio Grande do Sul**

Esteio.

- **Rio de Janeiro**

Barra do Piraí, Duas Barras, Porciúncula, Rio de Janeiro, Sapucaia, Sumidouro, Cantagalo, Tanguá.

- **São Paulo**

Assis, Barão de Antonina, Cândido Mota, Cerquilho, Coronel Macedo, Ipaussu, Itaberá, Itaí, Itapeva, Ourinhos, Palmital, Porto Feliz, Riversul, Salto Grande, Santa Cruz do Rio Pardo, São Paulo, Taquarituba, Chavantes, Fartura, Ibirarema, Pindamonhangaba, Ribeirão do Sul, Ribeirão Preto, São Pedro do Turvo, Taguaí.

- **Sergipe**

Aracaju, Arauá, Areia Branca, Barra dos Coqueiros, Boquim, Brejo Grande, Campo do Brito, Capela, Carmópolis, Cedro de São João, Cristinápolis, Divina Pastora, Estância, General Maynard, Ilha das Flores, Indiaroba, Itabaiana, Itabaianinha, Itaporanga d'Ajuda, Japaratuba, Japoatã, Lagarto, Laranjeiras, Malhada dos Bois, Malhador, Maruim, Muribeca, Neópolis, Nossa Senhora do Socorro, Pacatuba, Pedrinhas, Pirambu, Propriá, Riachão do Dantas, Riachuelo, Rosário do Catete, Salgado, Santa Luzia do Itanhy, Santa Rosa de Lima, Santo Amaro das Brotas, São Cristóvão, São Domingos, São Francisco, Simão Dias, Siriri, Telha, Tobias Barreto, Tomar do Geru, Umbaúba.

Biomphalaria straminea

A presença de *B. straminea* foi registrada em 1.325 municípios, distribuídos por 24 estados brasileiros (Acre, Alagoas, Amazonas, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do

Sul, Minas Gerais, Pará, Paraíba, Paraná, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, Santa Catarina, São Paulo, Sergipe, Tocantins, Roraima), além do Distrito Federal (Figuras 3, 5, 7, 9, 11, 12). Até o momento não foi encontrada, apenas, nos estados de Roraima, Amapá e Rondônia. Apresenta maior domínio na região Nordeste, principalmente nos estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia, região compreendida pelos paralelos 02º 54' e 31º 00' S, pelo meridiano 44º 43' W e o litoral. No estado de Minas Gerais dois aglomerados de populações encontram-se nas mesorregiões do Norte de Minas e Metropolitana de Belo Horizonte. A partir dessas áreas inúmeras populações podem ser observadas espalhadas pelo território brasileiro, mais ou menos distantes do corpo principal da área de distribuição da espécie. Em decorrência de sua extensa distribuição, *B. straminea* é a espécie "mais bem adaptada a todas as variedades de climas e condições ecológicas do país. Assim, os espaços claros nos mapas de sua distribuição são devidos em grande parte à falta de pesquisas nessas regiões." (Paraense, 1986). Esses moluscos são habitantes de coleções hídricas permanentes e temporárias, estando mais ajustados ao clima seco do Nordeste (Paraense, 1970).

Figura 3 – Distribuição espacial da *Biomphalaria straminea*

Fonte: atualizado de Carvalho et al. (2004).

Nos mapas de distribuição publicados nas décadas de 1970 e 1980, *B. straminea* é referida como tendo sua "freqüência máxima na área limitada pelo meridiano 41ºW, pelo paralelo 11ºS e pela linha costeira" (Paraense, 1970, 1972, 1986). Entretanto, atualmente verifica-se que a área de dominância da espécie foi ampliada, estendendo-se até o meridiano 44ºW e paralelo 2ºS. De fato, *B. straminea* estaria presente "em todos os sistemas de drenagem do território brasileiro, com exceção apenas da Bacia do Uruguai, do lado

oriental da Bacia do Paraná e da área que drena para o Atlântico ao sul do paralelo 21°S" (Paraense, 1970, 1972, 1986) Esta observação é atual, como pode ser verificado pelos dados aqui apresentados. Uma população de moluscos morfologicamente semelhante a *B. straminea*, coletada na localidade de Espinillar, próxima a Salto, na área da represa de Salto Grande (Uruguai), foi exposta a miracídios da cepa SJ2 de *S. mansoni* infectante para *B. tenagophila*. O índice de infecção obtido foi de 23%, constituindo-se este molusco em um potencial hospedeiro de *S. mansoni* naquele país (Paraense & Corrêa, 1989).

Ocorrência de *Biomphalaria straminea* por municípios

- **Acre**

Cruzeiro do Sul, Rio Branco.

- **Alagoas**

Água Branca, Anadia, Arapiraca, Atalaia, Belém, Boca da Mata, Cacimbinhas, Cajueiro, Capela, Colônia Leopoldina, Coruripe, Delmiro Gouveia, Flexeiras, Girau do Ponciano, Igaci, Igreja Nova, Jacuípe, Junqueiro, Lagoa da Canoa, Limoeiro de Anadia, Maceió, Major Isidoro, Maribondo, Mar Vermelho, Mata Grande, Murici, Olho d'Água das Flores, Olho d'Água do Casado, Palmeira dos Índios, Pão de Açúcar, Passo de Camaragibe, Penedo, Piaçabuçu, Pilar, Pindoba, Piranhas, Porto Calvo, Porto de Pedras, Porto Real do Colégio, Quebrangulo, Rio Largo, Santana do Ipanema, São Brás, São José da Laje, São José da Tapera, São Luís do Quitunde, São Miguel dos Campos, Satuba, Tanque d'Arca, Traipu, União dos Palmares, Viçosa.

- **Amazonas**

Careiro, Humaitá, Manacapuru, Manaus.

- **Bahia**

Abaíra, Abaré, Acajutiba, Adustina, Água Fria, Aiquara, Alagoinhas, Alcobaça, Almadina, Amargosa, Amélia Rodrigues, América Dourada, Anagé, Andaraí, Andorinha, Angical, Anguera, Antas, Antônio Cardoso, Antônio Gonçalves, Aporá, Apuarema, Araças, Aracatu, Araci, Aramari, Arataca, Aratuípe, Aurelino Leal, Baianópolis, Baixa Grande, Banzaê, Barra, Barra da Estiva, Barra do Choça, Barra do Mendes, Barra do Rocha, Barreiras, Barro Alto, Belmonte, Belo Campo, Biritinga, Boa Nova, Boa Vista do Tupim, Bom Jesus da Lapa, Bom Jesus da Serra, Boninal, Bonito, Boquira, Botuporã, Brejões, Brejolândia, Brotas de Macaúbas, Brumado, Buerarema, Buritirama, Caatiba, Cabaceiras do Paraguaçu, Cachoeira, Caculé, Caém, Caetanos, Caetité, Cafarnaum, Cairu, Caldeirão Grande, Camacan, Camaçari, Camamu, Campo Alegre de Lourdes, Campo Formoso, Canápolis, Canarana, Canavieiras, Candeal, Candeias, Candiba, Cândido Sales, Cansanção, Canudos, Capela do Alto Alegre, Capim Grosso, Caraíbas, Caravelas, Cardeal da Silva, Carinhanha, Casa Nova, Castro Alves, Catolândia, Catu, Caturama, Central, Chorrochó, Cícero Dantas, Cipó, Coaraci, Cocos, Conceição da Feira, Conceição do Almeida, Conceição do Coité, Conceição do Jacuípe, Conde, Condeúba, Contendas do Sincorá, Coração de Maria, Cordeiros, Coribe, Coronel João Sá, Correntina, Cotegipe, Cravolândia, Crisopólis, Cristópolis, Cruz das Almas, Curaçá, Dário Meira, Dias d'Ávila, Dom Basílio, Dom Macedo Costa, Elísio Medrado, Encruzilhada, Entre Rios, Érico Cardoso, Esplanada, Euclides da Cunha, Eunápolis, Fátima, Feira da Mata, Feira de Santana, Filadélfia, Firmino Alves, Floresta Azul, Formosa do Rio Preto, Gandu, Gavião, Gentio do Ouro, Glória, Gongogi, Governador Mangabeira, Guajeru, Guanambi, Guaratinga, Heliópolis, Iaçu, Ibiassucê, Ibicaraí, Ibicoara, Ibicuí, Ibipeba, Ibipitanga, Ibiquera,

Ibirapitanga, Ibirapuã, Ibirataia, Ibitiara, Ibititá, Ibotirama, Ichu, Igaporã, Igrapiúna, Iguaí, Ilhéus, Inhambupe, Ipecaetá, Ipiaú, Ipirá, Ipupiara, Irajuba, Iramaia, Iraquara, Irará, Irecê, Itabela, Itaberaba, Itabuna, Itacaré, Itaeté, Itagibá, Itagimirim, Itaguaçu da Bahia, Itaju do Colônia, Itajuípe, Itamaraju, Itamari, Itambé, Itanagra, Itanhém, Itaparica, Itapé, Itapebi, Itapetinga, Itapicuru, Itapitanga, Itarantim, Itatim, Itiruçu, Itiúba, Itororó, Ituaçu, Ituberá, Iuiú, Jaborandi, Jacaraci, Jacobina, Jaguarari, Jaguaripe, Jandaíra, Jequié, Jeremoabo, Jiquiriçá, Jitaúna, João Dourado, Juazeiro, Jucuruçu, Jussara, Jussari, Jussiape, Lafaiete Coutinho, Lagoa Real, Laje, Lajedão, Lajedinho, Lajedo do Tabocal, Lamarão, Lapão, Lauro de Freitas, Lençóis, Licínio de Almeida, Macajuba, Macarani, Macaúbas, Macururé, Madre de Deus, Maetinga, Maiquinique, Mairi, Malhada, Malhada de Pedras, Manoel Vitorino, Mansidão, Maracás, Maragogipe, Maraú, Marcionílio Souza, Mascote, Mata de São João, Matina, Medeiros Neto, Miguel Calmon, Milagres, Mirangaba, Mirante, Monte Santo, Morpará, Morro do Chapéu, Mortugaba, Mucugê, Mucuri, Mulungu do Morro, Mundo Novo, Muniz Ferreira, Muquém de São Francisco, Muritiba, Mutuípe, Nazaré, Nilo Peçanha, Nordestina, Nova Canaã, Nova Fátima, Nova Ibiá, Nova Itarana, Nova Redenção, Nova Soure, Nova Viçosa, Novo Horizonte, Novo Triunfo, Olindina, Oliveira dos Brejinhos, Ouriçangas, Ourolândia, Palmas de Monte Alto, Palmeiras, Paramirim, Paratinga, Paripiranga, Pau Brasil, Paulo Afonso, Pé de Serra, Pedrão, Pedro Alexandre, Piatã, Pilão Arcado, Pindaí, Pindobaçu, Pintadas, Piraí do Norte, Piripá, Piritiba, Planaltino, Planalto, Poções, Pojuca, Ponto Novo, Porto Seguro, Potiraguá, Prado, Presidente Dutra, Presidente Jânio Quadros, Presidente Tancredo Neves, Queimadas, Quijingue, Quixabeira, Rafael Jambeiro, Remanso, Retirolândia, Riachão das Neves, Riachão do Jacuípe, Riacho de Santana, Ribeira do Amparo, Ribeira do Pombal, Ribeirão do Largo, Rio de Contas, Rio do Antônio, Rio do Pires, Rio Real, Rodelas, Ruy Barbosa, Salinas da Margarida, Salvador, Santa Bárbara, Santa Brígida, Santa Cruz Cabrália, Santa Cruz da Vitória, Santa Inês, Santa Luzia, Santa Maria da Vitória, Santa Rita de Cássia, Santa Teresinha, Santaluz, Santana, Santanópolis, Santo Amaro, Santo Antônio de Jesus, Santo Estêvão, São Desidério, São Domingos, São Felipe, São Félix, São Félix do Coribe, São Francisco do Conde, São Gabriel, São Gonçalo dos Campos, São José da Vitória, São José do Jacuípe, São Miguel das Matas, São Sebastião do Passé, Sapeaçu, Sátiro Dias, Saubara, Saúde, Seabra, Sebastião Laranjeiras, Senhor do Bonfim, Sento Sé, Serra do Ramalho, Serra Dourada, Serra Preta, Serrinha, Serrolândia, Simões Filho, Sítio do Mato, Sítio do Quinto, Sobradinho, Souto Soares, Tabocas do Brejo Velho, Tanhaçu, Tanque Novo, Tanquinho, Taperoá, Tapiramutá, Teixeira de Freitas, Teodoro Sampaio, Teofilândia, Teolândia, Terra Nova, Tremedal, Tucano, Uauá, Ubaíra, Ubaitaba, Ubatã, Uibaí, Umburanas, Una, Urandi, Uruçuca, Utinga, Valença, Valente, Várzea da Roça, Várzea do Poço, Várzea Nova, Varzedo, Vera Cruz, Vereda, Vitória da Conquista, Wagner, Wanderley, Wenceslau Guimarães, Xique-Xique.

- **Distrito Federal**

Brasília.

- **Ceará**

Abaiara, Acarape, Acaraú, Acopiara, Aiuaba, Amontada, Antonina do Norte, Apuiarés, Aquiraz, Aracati, Aracoiaba, Araripe, Aratuba, Arneiroz, Assaré, Aurora, Baixio, Banabuiú, Barbalha, Barreira, Barro, Baturité, Boa Viagem, Brejo Santo, Camocim, Campos Sales, Canindé, Capistrano, Cariré, Caririaçu, Carnaubal, Cascavel, Caucaia, Cedro, Coreaú, Crateús, Crato, Croatá, Farias Brito, Forquilha, Fortaleza, Frecheirinha, General Sampaio, Granja, Guaiúba, Guaramiranga, Icó, Iguatu, Independência, Ipaumirim,

Ipu, Ipueiras, Itaiçaba, Itapipoca, Itapiúna, Jaguaretama, Jaguaribe, Jaguaruana, Jardim, Jati, Juazeiro do Norte, Jucás, Lavras da Mangabeira, Limoeiro do Norte, Maracanaú, Maranguape, Massapê, Mauriti, Milagres, Milhã, Missão Velha, Mombaça, Morada Nova, Morrinhos, Mulungu, Nova Olinda, Nova Russas, Orós, Pacajus, Pacatuba, Pacoti, Palmácia, Paracuru, Paraipaba, Parambu, Pedra Branca, Penaforte, Pentecoste, Pereiro, Piquet Carneiro, Porteiras, Quixadá, Quixelô, Quixeramobim, Quixeré, Redenção, Reriutaba, Russas, Saboeiro, Santa Quitéria, Santana do Acaraú, Santana do Cariri, São Benedito, São Gonçalo do Amarante, São Luís do Curu, Senador Pompeu, Sobral, Solonópole, Tabuleiro do Norte, Tamboril, Tauá, Umari, Uruburetama, Uruoca, Varjota, Várzea Alegre, Viçosa do Ceará.

- **Espírito Santo**

Água Doce do Norte, Águia Branca, Aracruz, Baixo Guandu, Barra de São Francisco, Colatina, Ecoporanga, Linhares, Mantenópolis, Mimoso do Sul, Montanha, Mucurici, Nova Venécia, Pancas, São Mateus.

- **Goiás**

Acreúna, Água Limpa, Anápolis, Barro Alto, Buriti Alegre, Cabeceiras, Cachoeira Dourada, Caldas Novas, Campinaçu, Campinorte, Ceres, Colinas do Sul, Corumbaíba, Damianópolis, Davinópolis, Flores de Goiás, Formosa, Goiânia, Guarani de Goiás, Iaciara, Inhumas, Itumbiara, Luziânia, Mambaí, Marzagão, Minaçu, Mineiros, Niquelândia, Padre Bernardo, Paraúna, Piracanjuba, Porangatu, Posse, Rio Verde, Santa Rita do Novo Destino, Santa Rosa de Goiás, Santo Antônio do Descoberto, São Domingos, Sítio d'Abadia, Trindade, Uruaçu.

- **Maranhão**

Açailândia, Alcântara, Araioses, Arari, Bacuri, Barreirinhas, Benedito Leite, Bequimão, Cajapió, Cururupu, Guimarães, Humberto de Campos, João Lisboa, Matinha, Mirinzal, Nova Iorque, Paço do Lumiar, Palmeirândia, Paraibano, Parnarama, Passagem Franca, Pastos Bons, Peri Mirim, Pindaré-Mirim, Pinheiro, Primeira Cruz, Rosário, Santa Helena, São Bento, São Bernardo, São Domingos do Maranhão, São João Batista, São João dos Patos, São Luís, São Vicente Ferrer, Timon, Turiaçu, Tutóia, Viana.

- **Mato Grosso**

Diamantino, Várzea Grande.

- **Mato Grosso do Sul**

Ponta Porã, Três Lagoas.

- **Minas Gerais**

Aimorés, Araxá, Arcos, Baldim, Bambuí, Barbacena, Belo Horizonte, Belo Oriente, Belo Vale, Betim, Bocaiúva, Bonfinópolis de Minas, Brasília de Minas, Brumadinho, Bueno Brandão, Buenópolis, Cachoeira Dourada, Caeté, Campos Gerais, Capim Branco, Capitão Enéas, Caraí, Caranaíba, Caratinga, Cascalho Rico, Cássia, Central de Minas, Centralina, Chapada do Norte, Claraval, Claro dos Poções, Conceição das Alagoas, Conselheiro Lafaiete, Contagem, Coração de Jesus, Cordisburgo, Corinto, Coronel Fabriciano, Curvelo, Delfinópolis, Delta, Divino das Laranjeiras, Douradoquara, Engenheiro Caldas, Engenheiro Navarro, Esmeraldas, Espinosa, Francisco Sá, Frei Inocêncio, Governador Valadares, Grupiara, Ibiaí, Ibiracatu, Igarapé, Igaratinga, Inhaúma, Inimutaba, Ipiaçu, Itabira, Itabirinha de Mantena, Itabirito, Itacarambi, Itaúna, Itinga, Ituiutaba, Jacinto, Janaúba, Januária, Japonvar, Jequitaí, Jequitibá, João

Pinheiro, Juiz de Fora, Juramento, Lagamar, Lagoa da Prata, Lagoa dos Patos, Lagoa Formosa, Lagoa Grande, Lagoa Santa, Lontra, Mamonas, Mateus Leme, Mato Verde, Matozinhos, Minas Novas, Mirabela, Montalvânia, Monte Alegre de Minas, Montes Claros, Mutum, Nova Lima, Pains, Papagaios, Paracatu, Paraguaçu, Paraopeba, Passos, Paulistas, Pedro Leopoldo, Pirapora, Pitangui, Ponte Nova, Porteirinha, Prudente de Morais, Rio Acima, Rio Casca, Sabará, Sacramento, Salinas, Salto da Divisa, Santa Cruz do Escalvado, Santa Luzia, Santa Maria do Suaçuí, Santa Rita de Minas, Santa Vitória, Santana de Pirapama, São Geraldo da Piedade, São Gonçalo do Abaeté, São João da Ponte, São José da Safira, São Pedro do Suaçuí, São Pedro dos Ferros, São Romão, São Sebastião do Paraíso, São Tomás de Aquino, Sardoá, Sete Lagoas, Sobrália, Taquaraçu de Minas, Teófilo Otoni, Timóteo, Três Marias, Ubá, Ubaí, Uberaba, Uberlândia, Unaí, Varzelândia, Vazante, Vespasiano.

- **Pará**

Alenquer, Altamira, Ananindeua, Belém, Belterra, Bragança, Breves, Capanema, Igarapé-Açu, Irituia, Itaituba, Monte Alegre, Nova Timboteua, Oriximiná, Primavera, Quatipuru, Santa Isabel do Pará, Santarém, Viseu.

- **Paraíba**

Alagoa Grande, Alagoa Nova, Alagoinha, Alhandra, Araçagi, Arara, Araruna, Areia, Aroeiras, Bananeiras, Barra de Santa Rosa, Belém, Bonito de Santa Fé, Boqueirão, Borborema, Brejo do Cruz, Caaporã, Cabaceiras, Cabedelo, Cacimba de Dentro, Caiçara, Cajazeiras, Caldas Brandão, Campina Grande, Catolé do Rocha, Conde, Coremas, Cruz do Espírito Santo, Cuitegi, Duas Estradas, Esperança, Guarabira, Ingá, Itabaiana, Itaporanga, Itapororoca, Itatuba, Jacaraú, João Pessoa, Juazeirinho, Juripiranga, Lagoa de Dentro, Mamanguape, Mari, Mogeiro, Monteiro, Mulungu, Natuba, Patos, Pedra Lavrada, Pedras de Fogo, Piancó, Picuí, Pilar, Pilões, Pilõezinhos, Pirpirituba, Pombal, Princesa Isabel, Remígio, Rio Tinto, Salgado de São Félix, Santa Luzia, Santa Rita, São João do Cariri, São Miguel de Taipu, São Sebastião do Umbuzeiro, Sapé, Serra da Raiz, Serraria, Solânea, Soledade, Sousa, Taperoá, Teixeira, Umbuzeiro.

- **Paraná**

Bela Vista do Paraíso, Foz do Iguaçu, Guaíra, Ibiporã, Jataizinho, Leópolis, Londrina, Porecatu.

- **Pernambuco**

Abreu e Lima, Afogados da Ingazeira, Agrestina, Água Preta, Águas Belas, Aliança, Altinho, Amaraji, Angelim, Araripina, Arcoverde, Barra de Guabiraba, Barreiros, Belém de Maria, Belém de São Francisco, Belo Jardim, Betânia, Bezerros, Bodocó, Bom Conselho, Bom Jardim, Bonito, Brejão, Brejo da Madre de Deus, Buenos Aires, Buíque, Cabrobó, Cachoeirinha, Calçado, Camutanga, Canhotinho, Carnaíba, Carpina, Catende, Chã de Alegria, Chã Grande, Condado, Correntes, Cortês, Cupira, Custódia, Escada, Exu, Ferreiros, Flores, Floresta, Frei Miguelinho, Gameleira, Garanhuns, Glória do Goitá, Goiana, Gravatá, Ibimirim, Igarassu, Inajá, Ipojuca, Ilha de Itamaracá, Itambé, Itapetim, Itapissuma, Itaquitinga, Jaboatão dos Guararapes, João Alfredo, Jupi, Jurema, Lagoa do Carro, Lagoa do Itaenga, Lagoa do Ouro, Lagoa dos Gatos, Lajedo, Limoeiro, Macaparana, Machados, Maraial, Mirandiba, Moreno, Nazaré da Mata, Olinda, Orobó, Ouricuri, Palmares, Palmeirina, Panelas, Parnamirim, Passira, Paudalho, Paulista, Pedra, Pesqueira, Petrolândia, Petrolina, Pombos, Primavera, Quipapá, Recife, Ribeirão, Rio Formoso, Salgadinho, Salgueiro, Saloá, Sanharó, Santa Cruz do Capibaribe, Santa Maria da Boa Vista, São Benedito do Sul,

São Bento do Una, São Caitano, São João, São Joaquim do Monte, São José do Egito, São Lourenço da Mata, São Vicente Ferrer, Serra Talhada, Serrita, Sertânia, Sirinhaém, Surubim, Tabira, Tacaimbó, Tacaratu, Terezinha, Timbaúba, Toritama, Tracunhaém, Trindade, Triunfo, Venturosa, Verdejante, Vertentes, Vicência, Vitória de Santo Antão.

- **Piauí**

Agricolândia, Água Branca, Alagoinha do Piauí, Alto Longá, Altos, Amarante, Angical do Piauí, Anísio de Abreu, Aroazes, Arraial, Barra d'Alcântara, Barro Duro, Bocaina, Buriti dos Montes, Campinas do Piauí, Campo Maior, Canto do Buriti, Caracol, Castelo do Piauí, Coivaras, Conceição do Canindé, Cristino Castro, Demerval Lobão, Dom Expedito Lopes, Elesbão Veloso, Floriano, Francinópolis, Francisco Ayres, Francisco Santos, Fronteiras, Guadalupe, Hugo Napoleão, Inhuma, Jaicós, Jardim do Mulato, José de Freitas, Juazeiro do Piauí, Lagoinha do Piauí, Lagoa Alegre, Miguel Alves, Miguel Leão, Monsenhor Gil, Novo Oriente do Piauí, Oeiras, Padre Marcos, Paes Landim, Palmeirais, Parnaíba, Passagem Franca do Piauí, Paulistana, Picos, Pio IX, Piripiri, Prata do Piauí, Regeneração, Santa Cruz do Piauí, Santo Antônio de Lisboa, Santo Inácio do Piauí, São Félix do Piauí, São Gonçalo do Piauí, São João da Canabrava, São João da Serra, São João do Piauí, São José do Peixe, São Julião, São Miguel do Tapuio, São Pedro do Piauí, São Raimundo Nonato, Sigefredo Pacheco, Simões, Simplício Mendes, Socorro do Piauí, Teresina, União, Valença do Piauí, Várzea Grande.

- **Rio Grande do Norte**

Acari, Açu, Água Nova, Alexandria, Alto do Rodrigues, Angicos, Apodi, Arês, Augusto Severo, Baía Formosa, Bento Fernandes, Brejinho, Caiçara do Rio do Vento, Caicó, Canguaretama, Caraúbas, Ceará-Mirim, Cerro Corá, Cruzeta, Currais Novos, Espírito Santo, Extremoz, Florânia, Goianinha, Ielmo Marinho, Ipanguaçu, Itaú, Jardim de Piranhas, Jardim do Seridó, João Câmara, José da Penha, Jucurutu, Lagoa d'Anta, Luís Gomes, Macaíba, Macau, Martins, Maxaranguape, Monte Alegre, Mossoró, Natal, Nísia Floresta, Nova Cruz, Parazinho, Parelhas, Parnamirim, Pau dos Ferros, Pedra Grande, Pedro Avelino, Pedro Velho, Pendências, Poço Branco, Portalegre, Pureza, Rafael Fernandes, Santa Cruz, Santana do Matos, Santo Antônio, São Bento do Norte, São Gonçalo do Amarante, São João do Sabugi, São José de Mipibu, São José do Campestre, São José do Seridó, São Miguel, São Paulo do Potengi, São Tomé, Senador Georgino Avelino, Serra Negra do Norte, Sítio Novo, Tai, Tangará, Ielmo Marinho, Tibau do Sul, Touros, Várzea, Vera Cruz, Vila Flor.

- **Rio Grande do Sul**

Porto Alegre.

- **Rio de Janeiro**

Angra dos Reis, Aperibé, Barra do Piraí, Barra Mansa, Cambuci, Cantagalo, Casimiro de Abreu, Duque de Caxias, Guapimirim, Iguaba Grande, Itaboraí, Itaocara, Magé, Mangaratiba, Maricá, Miguel Pereira, Niterói, Nova Iguaçu, Paracambi, Paraíba do Sul, Petrópolis, Pinheiral, Piraí, Porciúncula, Resende, Rio das Flores, Rio de Janeiro, Santo Antônio de Pádua, São Gonçalo, Sapucaia, Silva Jardim, Três Rios, Vassouras, Volta Redonda.

- **Santa Catarina**

Florianópolis, Governador Celso Ramos.

- **São Paulo**

Adolfo, Altair, Americana, Andradina, Araçatuba, Araraquara, Araras, Bananal, Barbosa, Barra Bonita, Bauru, Botucatu, Caçapava, Campinas, Cruzeiro, Gabriel Monteiro, Guaraçaí, Iepê, Ilha Solteira, Iperó, Jarinu, Lucélia, Nova Granada, Ourinhos, Paulo de Faria, Pereira Barreto, Pitangueiras, Presidente Prudente, Rancharia, Registro, Ribeirão Preto, Rubiácea, Salto Grande, São José do Rio Preto, Serrana, Sertãozinho, Taboão da Serra, Taubaté, Tremembé, Tupi Paulista.

- **Sergipe**

Aracaju, Arauá, Areia Branca, Barra dos Coqueiros, Capela, Carmópolis, Cedro de São João, General Maynard, Ilha das Flores, Japaratuba, Lagarto, Laranjeiras, Malhada dos Bois, Malhador, Maruim, Muribeca, Neópolis, Nossa Senhora do Socorro, Pacatuba, Poço Verde, Propriá, Riachuelo, Rosário do Catete, Santa Luzia do Itanhy, Santa Rosa de Lima, Santo Amaro das Brotas, São Francisco, Simão Dias, Telha, Umbaúba.

- **Tocantins**

Arraias, Paranã, Peixe.

- **Roraima**

Boa Vista.

Biomphalaria tenagophila

Biomphalaria tenagophila foi notificada em 603 municípios de dez estados brasileiros (Bahia, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, Santa Catarina e São Paulo), além do Distrito Federal, em um quadrante delimitado pelos paralelos 10º 12' e 33º 41' S, pelo meridiano 57º 05' W e a linha litorânea (Figuras 4, 6, 10, 11, 12). A espécie é encontrada numa faixa litorânea, de forma quase contínua a partir do sul do estado da Bahia até o estado do Rio Grande do Sul. Até 1986, esta espécie não era encontrada em Santa Catarina, ao sul de Blumenau, devido à ausência de pesquisas (Paraense, 1986). De fato, a descoberta de *B. tenagophila* em Porto Belo, ao sul de Blumenau, veio confirmar a proposição da continuidade desta espécie em toda a faixa litorânea (Teles, Pereira & Richinitti, 1991). A área mais densa de sua distribuição abrange os estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro e Santa Catarina. Nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul a espécie avança em direção ao oeste. Nos estados de São Paulo e parte do Paraná esses moluscos atingem a divisa do estado do Mato Grosso do Sul.

A distribuição de *B. tenagophila* atinge as divisas da Argentina no estado do Rio Grande do Sul e em parte do estado do Paraná. A presença de *B. tenagophila* no oeste do estado do Rio Grande do Sul, na divisa com a Argentina nos municípios de Uruguaiana (57º 05' W) e São Borja (56º 00' W) e em São Pedro do Sul (54º 10' W), sugere que a ocorrência de *B. tenagophila* naquele estado é muito mais ampla, devendo-se sua ausência apenas à falta de pesquisas. Algumas populações podem ser encontradas longe do corpo central de sua distribuição, no Distrito Federal e nos estados de Goiás e Mato Grosso do Sul.

Após a descrição de *B. occidentalis* (Paraense, 1981), morfologicamente muito semelhante a *B. tenagophila*, em grande área no oeste do Brasil, o mapa de distribuição desta última espécie tem sofrido constantes modificações. De fato, *B. tenagophila* tem cedido lugar a *B. occidentalis* nos estados de Mato

Grosso, Mato Grosso do Sul e no extremo oeste de São Paulo (Paraense, 1986). Dados da Superintendência de Controle de Endemias (Sucen) assinalaram a presença de *B. tenagophila* em 208 municípios do estado de São Paulo (Piza et al., s.d.). Posteriormente verificou-se que em 34 desses municípios os moluscos, inicialmente identificados como *B. tenagophila*, eram na verdade *B. occidentalis* (Teles, 1989). Nesse último estudo, *B. occidentalis* foi encontrada em 16,9% (97) dos municípios do estado de São Paulo existentes à época.

Figura 4 – Distribuição espacial da *Biomphalaria tenagophila*

Fonte: atualizado de Carvalho et al. (2004).

Com a descrição de *B. t. guaibensis* (Paraense, 1984) ocorre nova modificação no mapa de distribuição de *B. tenagophila*, agora no Rio Grande do Sul. Entretanto, permanecem os registros desta última espécie em Chuí, Curral Alto, Tramandaí, Osório, Pedro Osório, Torres, Uruguaiana, São Borja, Viamão, São Pedro do Sul e Pirapó (Paraense, 1972; Paraense & Corrêa, 1989; Fróes & Lima, 1975; Olazarri, 1981; Teles, Pereira & Richinitti, 1991).

Apesar de sua dominância em algumas áreas, *B. tenagophila* é encontrada na natureza com baixas taxas de infecção, colonizando coleções hídricas permanentes, uma vez que esses moluscos seriam incapazes de resistir à dessecação do ambiente (Paraense, 1972). Em decorrência da sua abundância nos estados do sul do Brasil, existe uma preocupação de que a espécie venha a desempenhar um importante papel na transmissão da esquistossomose naquela região: "*From Lutz's time schistosomiasis has spread slowly but steadily in all directions,* B. tenagophila *came to be an efficient vector, and hardly do a few years pass without a new focus of transmission appearing somewhere*" (Paraense & Corrêa, 1987: 577).

Ocorrência de *Biomphalaria tenagophila* por Municípios

- **Bahia**

Canavieiras, Caravelas, Itabela, Itamaraju, Mucuri, Nova Viçosa, Prado, Santa Luzia.

- **Distrito Federal**

Brasília.

- **Espírito Santo**

Água Doce do Norte, Águia Branca, Alegre, Alfredo Chaves, Anchieta, Apiacá, Aracruz, Atilio Vivacqua, Boa Esperança, Bom Jesus do Norte, Cachoeiro de Itapemirim, Cariacica, Castelo, Colatina, Conceição da Barra, Domingos Martins, Dores do Rio Preto, Ecoporanga, Fundão, Guaçuí, Guarapari, Ibiraçu, Iconha, Itaguaçu, Itapemirim, Jerônimo Monteiro, Linhares, Mantenópolis, Mimoso do Sul, Montanha, Mucurici, Muniz Freire, Muqui, Nova Venécia, Pancas, Pinheiros, Piúma, Presidente Kennedy, Rio Novo do Sul, São Gabriel da Palha, São José do Calçado, São Mateus, Serra, Viana, Vila Velha, Vitória.

- **Goiás**

Formosa.

- **Mato Grosso do Sul**

Campo Grande.

- **Minas Gerais**

Água Comprida, Aimorés, Alagoa, Alfenas, Barão de Monte Alto, Barbacena, Belo Horizonte, Betim, Bocaiúva, Bom Despacho, Cabo Verde, Caeté, Conselheiro Lafaiete, Contagem, Coronel Fabriciano, Delta, Divinópolis, Dom Joaquim, Doresópolis, Esmeraldas, Governador Valadares, Guaranésia, Guaxupé, Itajubá, Jaboticatubas, Jaguaraçu, Jequitaí, Joaíma, Juiz de Fora, Lagoa da Prata, Lagoa Santa, Machacalis, Marliéria, Matias Barbosa, Monte Belo, Mutum, Nova Era, Nova Lima, Ouro Branco, Paraguaçu, Passos, Patos de Minas, Pitangui, Ponte Nova, Prudente de Morais, Rio Doce, Rio Novo, Sabará, Santa Luzia, São Geraldo da Piedade, Sardoá, Sete Lagoas, Taquaraçu de Minas, Turvolândia, Ubá, Ubaí, Uberaba, Uberlândia, Varzelândia, Vespasiano, Viçosa.

- **Paraná**

Abatiá, Alto Piquiri, Alvorada do Sul, Andirá, Antonina, Assaí, Bandeirantes, Barra do Jacaré, Bela Vista do Paraíso, Califórnia, Cambará, Cambé, Capanema, Carlópolis, Cascavel, Centenário do Sul, Colorado, Congonhinhas, Conselheiro Mairinck, Cornélio Procópio, Curitiba, Florestópolis, Formosa do Oeste, Foz do Iguaçu, Goioerê, Guaíra, Guapirama, Guaraci, Ibaiti, Ibipora, Icaraíma, Iporã, Itaguajé, Itambaracá, Jacarezinho, Jaguapitã, Japira, Jataizinho, Jundiaí do Sul, Leópolis, Londrina, Marechal Cândido Rondon, Maria Helena, Marialva, Mariluz, Matinhos, Medianeira, Moreira Sales, Morretes, Nossa Senhora das Graças, Nova América da Colina, Nova Aurora, Nova Fátima, Palotina, Paranacity, Paranaguá, Porecatu, Primeiro de Maio, Querência do Norte, Rancho Alegre, Ribeirão Claro, Ribeirão do Pinhal, Rolândia, Sabáudia, Salto do Itararé, Santa Amélia, Santa Cecilia do Pavão, Santa Cruz de Monte Castelo, Santa Helena, Santa Mariana, Santo Antônio da Platina, São Miguel do Iguaçu, São Sebastião da Amoreira, Sarandi, Sertaneja, Sertanópolis, Siqueira Campos, Terra Roxa, Tomazina, Umuarama, Uraí.

- **Rio Grande do Sul**

Chuí, Esteio, Osório, Pedro Osório, Pirapó, São Borja, São Pedro do Sul, Torres, Tramandaí, Uruguaiana, Viamão.

- **Rio de Janeiro**

Aperibé, Angra dos Reis, Araruama, Areal, Armação de Búzios, Barra do Piraí, Barra Mansa, Belford Roxo, Bom Jardim, Bom Jesus do Itabapoana, Cabo Frio, Cachoeiras de Macacu, Campos dos Goytacazes, Cambuci, Cardoso Moreira, Comendador Levy Gasparian, Conceição de Macabu, Cantagalo, Carapebus, Carmo, Casimiro de Abreu, Cordeiro, Duas Barras, Duque de Caxias, Engenheiro Paulo de Frontin, Guapimirim, Iguaba Grande, Itaboraí, Itaguaí, Italva, Itaocara, Itaperuna, Itatiaia, Japeri, Laje do Muriaé, Macaé, Macuco, Magé, Mangaratiba, Maricá, Mendes, Miguel Pereira, Miracema, Natividade, Nilópolis, Niterói, Nova Friburgo, Nova Iguaçu, Paracambi, Paraíba do Sul, Paty do Alferes, Petrópolis, Pinheiral, Piraí, Porciúncula, Porto Real, Quatis, Queimados, Quissamã, Resende, Rio Bonito, Rio Claro, Rio das Flores, Rio das Ostras, Rio de Janeiro, Santa Maria Madalena, Santo Antônio de Pádua, São Francisco de Itabapoana, São Fidélis, São Gonçalo, São João da Barra, São João de Meriti, São José de Ubá, São José do Vale do Rio Preto, São Pedro da Aldeia, São Sebastião do Alto, Sapucaia, Saquarema, Silva Jardim, Sumidouro, Tanguá, Teresópolis, Trajano de Morais, Três Rios, Valença, Varre-Sai, Vassouras, Volta Redonda.

- **Santa Catarina**

Agrolândia, Águas Mornas, Antônio Carlos, Apiúna, Araquari, Armazém, Ascurra, Balneário Barra do Sul, Balneário Camboriú, Barra Velha, Benedito Novo, Biguaçu, Blumenau, Bombinhas, Brusque, Camboriú, Canelinha, Corupá, Doutor Pedrinho, Florianópolis, Garopaba, Garuva, Gaspar, Governador Celso Ramos, Guaramirim, Ibirama, Ilhota, Imaruí, Imbituba, Indaial, Itajaí, Itapema, Jaraguá do Sul, Joinville, José Boiteux, Laguna, Lontras, Luiz Alves, Massaranduba, Navegantes, Palhoça, Paulo Lopes, Penha, Piçarras, Pomerode, Porto Belo, Rio do Sul, Rio dos Cedros, Rodeio, Santo Amaro da Imperatriz, São Francisco do Sul, São João Batista, São João do Itaperiu, São José, São Martinho, Schroeder, Tijucas, Timbó, Vitor Meireles.

- **São Paulo**

Alfredo Marcondes, Alto Alegre, Álvares Machado, Álvaro de Carvalho, Americana, Amparo, Anhembi, Anhumas, Aparecida, Apiaí, Araçatuba, Araçoiaba da Serra, Araraquara, Araras, Arujá, Avanhandava, Bananal, Barbosa, Bariri, Barra Bonita, Barueri, Bauru, Bebedouro, Birigui, Biritiba-Mirim, Boituva, Bom Jesus dos Perdões, Boracéia, Botucatu, Brodowski, Buri, Cabreúva, Caçapava, Cachoeira Paulista, Cafelândia, Caieiras, Caiuá, Cajamar, Campinas, Campo Limpo Paulista, Campos do Jordão, Cananéia, Capivari, Caraguatatuba, Carapicuíba, Casa Branca, Castilho, Cerquilho, Charqueada, Conchas, Cordeirópolis, Cosmópolis, Cotia, Cruzeiro, Cubatão, Descalvado, Diadema, Dracena, Eldorado, Elias Fausto, Embu, Embu-Guaçu, Espírito Santo do Pinhal, Fartura, Ferraz de Vasconcelos, Florínia, Francisco Morato, Franco da Rocha, Gália, Garça, Gastão Vidigal, Getulina, Glicério, Guaimbê, Guarantã, Guararapes, Guararema, Guaratinguetá, Guarujá, Guarulhos, Iacanga, Iacri, Ibaté, Ibirarema, Ibiúna, Igaraçu do Tietê, Iguape, Ilhabela, Indaiatuba, Indiana, Ipaussu, Iperó, Iporanga, Iracemápolis, Itanhaém, Itapecerica da Serra, Itapetininga, Itapevi, Itapira, Itaporanga, Itapuí, Itaquaquecetuba, Itariri, Itatiba, Itu, Jaboticabal, Jacareí, Jacupiranga, Jaguariúna, Jambeiro, Jandira, Jarinu, Jaú, Júlio Mesquita, Jundiaí, Juquiá, Juquitiba, Lagoinha, Laranjal Paulista, Leme, Lençóis Paulista, Limeira, Lins, Lorena, Louveira, Lutécia, Macatuba, Mairinque, Mairiporã,

Marabá Paulista, Marília, Martinópolis, Mauá, Mineiros do Tietê, Miracatu, Mirante do Paranapanema, Mococa, Mogi das Cruzes, Mogi-Guaçu, Mogi-Mirim, Mongaguá, Monte Alto, Monte Mor, Morungaba, Nova Odessa, Oriente, Osasco, Oscar Bressane, Ourinhos, Palmital, Pariquera-Açu, Paulicéia, Paulínia, Pederneiras, Pedreira, Pedro de Toledo, Penápolis, Pereiras, Peruíbe, Piacatu, Piedade, Pilar do Sul, Pindamonhangaba, Piquete, Piracicaba, Piraju, Pirangi, Pirapozinho, Pirassununga, Poá, Pompéia, Porangaba, Porto Feliz, Praia Grande, Presidente Alves, Presidente Bernardes, Presidente Prudente, Presidente Venceslau, Promissão, Queiroz, Rafard, Redenção da Serra, Registro, Ribeira, Ribeirão Pires, Ribeirão Preto, Riversul, Rincão, Rinópolis, Rio Claro, Rio Grande da Serra, Roseira, Rubiácea, Salesópolis, Salto, Salto de Pirapora, Salto Grande, Santa Bárbara d'Oeste, Santa Clara d'Oeste, Santa Cruz das Palmeiras, Santa Cruz do Rio Pardo, Santa Gertrudes, Santa Isabel, Santa Lúcia, Santana de Parnaíba, Santo André, Santópolis do Aguapeí, Santos, São Bernardo do Campo, São Caetano do Sul, São Carlos, São José do Rio Pardo, São José dos Campos, São Luís do Paraitinga, São Manuel, São Miguel Arcanjo, São Paulo, São Pedro, São Roque, São Sebastião, São Simão, São Vicente, Sarapuí, Serrana, Sertãozinho, Sete Barras, Silveiras, Sorocaba, Sumaré, Suzano, Taboão da Serra, Taciba, Taguaí, Taubaté, Tietê, Tremembé, Tupã, Ubatuba, Valinhos, Valparaíso, Vargem Grande do Sul, Vargem Grande Paulista, Vera Cruz, Vinhedo, Votorantim, Chavantes.

PERSPECTIVAS

A extensa distribuição dos hospedeiros intermediários de *S. mansoni* no Brasil confere à esquistossomose caráter expansivo até mesmo para as áreas consideradas indenes (Carvalho et al., 1988, 1998; Katz & Carvalho, 1983). Nas áreas endêmicas, grandes concentrações desses moluscos, aliados a outros fatores de risco, favorecem a existência de localidades com altas prevalências da esquistossomose. Em que pese os esforços de alguns pesquisadores e serviços de saúde, a real distribuição dos hospedeiros intermediários de *S. mansoni*, no Brasil, ainda é limitada, sendo evidente que a distribuição real das espécies está ainda longe de ser satisfatoriamente conhecida, principalmente devido a dificuldades de acesso a grandes áreas do país, como as regiões Norte e Centro-Oeste. Outro fator limitante é o pequeno número de pesquisadores interessados, cuja atuação se faz sentir especialmente nas áreas de atuação de suas instituições (Paraense, 1972).

Apesar disso a distribuição geográfica dos moluscos do gênero *Biomphalaria* vem sendo lenta, mas progressivamente acrescida de novas localidades. Esses acréscimos são devidos a dados obtidos por inúmeros pesquisadores, pelas secretarias estaduais de Saúde e pela Secretaria de Vigilância em Saúde (ex-Fundação Nacional de Saúde), que têm disponibilizado os dados por intermédio da Gerência de Esquistossomose. Entretanto, apesar dos esforços, grandes áreas do Brasil são ainda desprovidas de informações sobre a presença das três espécies vetoras de *S. mansoni.* Isto se deve, sobretudo, à grande extensão territorial, à dificuldade de acesso e ao pequeno número de pesquisadores preocupados com o assunto (Paraense, 1970, 1972).

Com os avanços observados na área de geoprocessamento e a facilidade de utilização de equipamentos e programas de computação, o estudo da esquistossomose e em particular o estudo da distribuição da doença e dos hospedeiros intermediários certamente serão privilegiados. A elaboração de modelos de predição poderão contribuir de maneira relevante com os serviços de saúde, direcionando ações e economizando recursos.

Figura 5 – Distribuição de *Biomphalaria* na região Norte

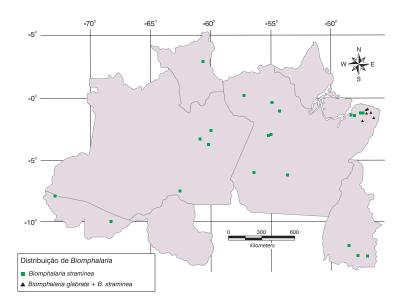



Figura 6 – Distribuição de *Biomphalaria* na região Nordeste

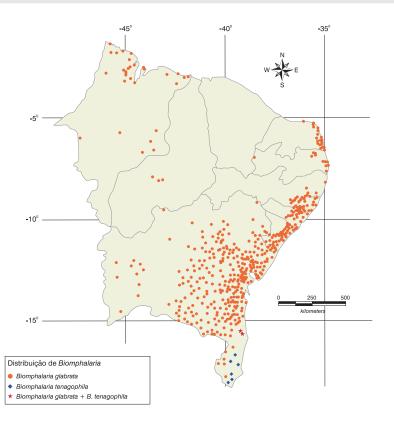



Figura 7 – Distribuição de *Biomphalaria* na região Nordeste

Figura 8 – Distribuição de *Biomphalaria* na região Sudeste

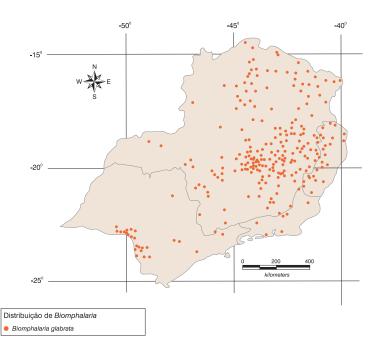



Figura 9 – Distribuição de *Biomphalaria* na região Sudeste

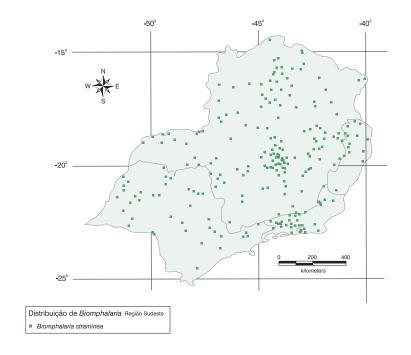



Figura 10 – Distribuição de *Biomphalaria* na região Sudeste

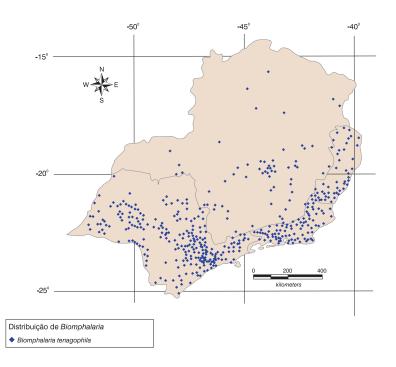



Figura 11 – Distribuição de *Biomphalaria* na região Centro-Oeste

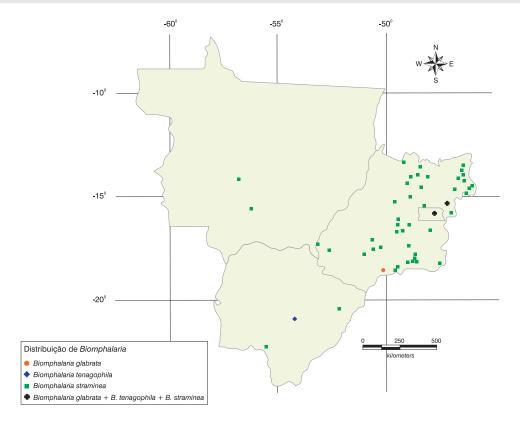
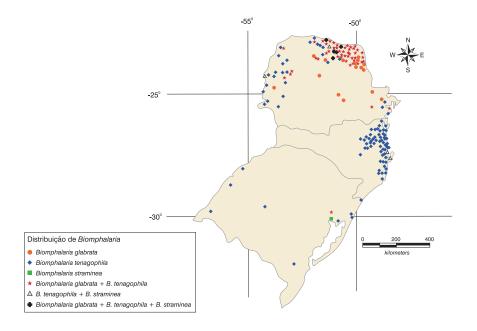



Figura 12 – Distribuição de *Biomphalaria* na região Sul

REFERÊNCIAS

BERNARDINI, O. J. & MACHADO, M. M. Esquistossomose mansônica em Santa Catarina: isolamento do *Schistosoma mansoni* do primeiro foco de transmissão ativa em São Francisco do Sul. Nota prévia. *Arquivos Catarinense de Medicina*, 10: 213, 1981.

CARVALHO, O. S.; NUNES, I. M. & CALDEIRA, R. L. First report of *Biomphalaria glabrata* in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93: 39-40, 1998.

CARVALHO, O. S.; SCHOLTE, R. G. C. & AMARAL, R. S. Distribuição dos hospedeiros intermediários de *Schistosoma mansoni* no Brasil. In: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância. *Vigilância e Controle de Moluscos de Importância Epidemiológica.* Brasília: Ministério da Saúde, 2007. (Normas e Manuais Técnicos, Série A)

CARVALHO, O. S. et al. Primeiros casos autótocnes de esquistossomose mansônica em região do Noroeste do Estado de Minas Gerais. *Revista de Saúde Pública de São Paulo*, 22: 237-239, 1988.

CARVALHO, O. S. et al. Schistosomiasis mansoni in the Region of the Triângulo Mineiro, State of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 89: 509-512, 1994.

CARVALHO, O. S. et al. Re-evaluation of Schistosomiasis mansoni in Minas Gerais, Brasil II. Alto Paranaíba mesoregion. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92: 141-142, 1997.

CARVALHO, O. S. et al. Re-evaluation of schistosomiasis mansoni in Minas Gerais – Brazil III. Noroeste de Minas mesoregion. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 40: 277-279, 1998.

FRÓES, O. M. & LIMA, D. F. Contribuição ao estudo da biogeografia , sistemática e ecologia dos Planorbídeos (Gastropoda, Planorbidade) do Rio Grande do Sul. *Iheringia. Série Zoologia*, 47: 67-72, 1975.

GRAEFF-TEIXEIRA, C. et al. Identification of a transmission focus of *Schistosoma mansoni* in the Southernmost Brazilian State, Rio Grande do Sul. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94: 9-10, 1999.

KATZ, N. & CARVALHO, O. S. Introdução recente da esquistossomose mansônica no Sul do Estado de Minas Gerais, Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 78: 281-284, 1983.

LUTZ, A. Observações sobre a evolução do *Schistosoma mansoni*. *Revista da Sociedade Brasileira de Ciências*, 1: 41-48, 1917.

OLAZARRI, J. *Biomphalaria tenagophila* (D'Orbigny) 1835 (Moll. Gastr.) em la zona de Salto Grande. 1º Ambiente de cria. *Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay,* 5: 321-346, 1981.

PARAENSE, W. L. Planorbídeos hospedeiros intermediários do *Schistosoma mansoni*. In: CUNHA, A. S. *Esquistossomose Mansônica*. São Paulo: Sarvier, Edusp, 1970.

PARAENSE, W. L. Fauna planorbídica do Brasil. In: LACAZ, E. ; BARUZZI, C. S., R. G. & SIQUEIRA JR., W. (Eds.) *Introdução à Geografia Médica do Brasil.* São Paulo: Edgard Blücher, Edusp, 1972.

PARAENSE, W. L. The distribution of the molluscan vectors of schistosomiasis in the Américas. *Brasilia Médica*, 11: 11-14, 1975.

PARAENSE, W. L. *Biomphalaria occidentalis* sp. N. from South América (Mollusca, Basomatophora, Pulmonata). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 76: 199-211, 1981.

PARAENSE, W. L. *Biomphalaria tenagophila guaibensis* ssp. N. from Southern Braziland Uruguyay (Pulmonata: Planorbidae) I- Morphology. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 79: 465-469, 1984.

PARAENSE, W. L. Distribuição dos caramujos no Brasil. In: REIS, F. A.; FARIA, I. & KATZ, N. (Orgs.) *Modernos Conhecimentos sobre Esquistossomose Mansônica*. Belo Horizonte: Academia Mineira de Medicina, 1986.

PARAENSE, W. L. The schistosome vectors in the americas. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96, supl.: 7-16, 2001.

PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. Probable extension of schistosomiasis mansoni to southern most Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82: 577, 1987.

PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. A potencial vector of *Schistosoma mansoni* in Uruguay. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 84: 281-288, 1989.

PIZA, J. T. & RAMOS, A. S. Os focos autóctones de esquistossomose no Estado de São Paulo. *Arquivos de Higiene e Saúde Pública*, 25: 261-271, 1960.

PIZA, J. T. et al. *Carta Planorbídica do Estado de São Paulo*. São Paulo: Secretaria de Estado da Saúde, s.d.

SCHLEMPER JR., B. R. et al. Distribuição geográfica de Planorbídeos em Santas Catarina, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 29: 411-418, 1996.

SOUZA, C. P. et al. Geographical Distribution of *Biomphalaria* Snails in the State of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 293-302, 2001.

TELES, H. M. S. Distribuição de *Biomphalaria tenagophila* e *B. occidentalis* no Estado de São Paulo. *Revista de Saúde Pública de São Paulo*, 23: 244-253, 1989.

TELES, H. M. S. Distribuição geográfica das espécies dos caramujos transmissores de *Schistosoma mansoni* no Estado de São Paulo, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 38: 426-432, 2005.

TELES, H. M. S.; PEREIRA, P. A. C. & RICHINITTI, L. M. Z. Distribuição de *Biomphalaria* (Gastropoda, Planorbidade) nos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, Brasil. *Revista de Saúde Pública de São Paulo*, 25: 350-352, 1991.

THIENGO, S. C.; SANTOS, S. B. & FERNANDEZ, M. A. Malacofauna límnica da área de influência do lago da usina hidrelétrica de Serra da Mesa, Goiás, Brasil. I. Estudo qualitativo. *Revista Brasileira de Zoologia*, 22(4): 867-874, 2005.

THIENGO, S. C. et al. A survey of freshwater gastropods in the Microrregiao Serrana of the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93, supl. I: 233-234, 1998.

THIENGO, S. C. et al. Freshwater snails and schistosomiasis mansoni in the State of Rio de Janeiro, Brazil: I – Metropolitan mesoregion. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96, supl.: 177-184, 2001.

THIENGO, S. C. et al. Freshwater snails and Schistosomiasis mansoni in the state of Rio de Janeiro, Brazil: III – Baixadas Mesoregion. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97, supl. 1: 43-46, 2002a.

THIENGO, S. C. et al. Freshwater snails and Schistosomiasis mansoni in the State of Rio de Janeiro, Brazil: II – Centro Fluminense Mesoregion. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97: 621-626, 2002b.

THIENGO, S. C. et al. Freshwater snails and Schistosomiasis mansoni in the state of Rio de Janeiro, Brazil: IV – Sul Fluminense Mesoregion. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99: 275-280, 2004.

THIENGO, S. C. et al. Freshwater snails and schistosomiasis mansoni in the state of Rio de Janeiro, Brazil: VI – Noroeste Fluminense Mesoregion. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101, supl. I: 239-245, 2006.

12 Diapausa em *Biomphalaria glabrata*

Otávio Sarmento Pieri
Tereza Cristina Favre

Criadouro de *Biomphalaria glabrata* em dessecamento.

Neste capítulo é feita uma revisão do conhecimento existente sobre a capacidade de indivíduos de algumas populações de *Biomphalaria glabrata* formarem lamelas na abertura da concha, saírem espontaneamente da água e entrarem em um estado de dormência persistente. O objetivo é reforçar o argumento que esta seqüência de alterações no desenvolvimento contínuo de *B. glabrata* integra uma estratégia de sobrevivência com valor adaptativo em ambientes sujeitos a variações ambientais cíclicas, sendo capaz de comprometer o êxito das campanhas de controle da esquistossomose nas áreas em que *B. glabrata* é a espécie transmissora.

Em primeiro lugar, são apresentadas evidências de que a formação de lamelas seguida da emigração espontânea da água ocorre preferencialmente em um estádio específico de desenvolvimento do indivíduo e em resposta a estímulos preditivos do meio ambiente. Em segundo lugar, são mostrados dados sobre a distribuição geográfica potencial desse fenômeno em *B. glabrata*, nas áreas endêmicas da esquistossomose em nosso país. Em terceiro lugar, são apresentados resultados sobre a extensão temporal da capacidade de sobrevivência fora da água dos indivíduos que exibem essa característica. Por último, são levantados argumentos a favor da hipótese de que surtos recentes dessa endemia em áreas litorâneas de veraneio no Nordeste podem estar associados à ocorrência de diapausa.

ASPECTOS CAUSAIS

Biomphalaria glabrata (Pulmonata, Planorbidae), uma das três espécies envolvidas na transmissão da esquistossomose mansoni no Brasil, pode ocorrer em uma variedade de coleções naturais ou artificiais de água doce, paradas ou de fraca correnteza. Os indivíduos dessa espécie são capazes de ajustar-se a mudanças nas condições ambientais quando estas se tornam inadequadas ao seu desenvolvimento, tais como temperaturas elevadas, falta de alimento ou hipoxia. Uma resposta direta desses indivíduos a condições ambientais desfavoráveis consiste em seu afastamento da água, quando eles se tornam então expostos à dessecação. A pronta retração de um caramujo no interior de sua concha na ausência de água tem valor adaptativo, já que os riscos de dessecação são diminuídos em conseqüência da redução da superfície de contato do caramujo com o ar. Ao comportamento de retração no interior da concha segue-se um período de dormência, que geralmente é interrompido quando o caramujo entra novamente em contato com a água. No estado de dormência, o caramujo pode manter níveis metabólicos reduzidos por períodos prolongados de tempo, o que depende da sua capacidade de diminuir as perdas de água, de mobilizar reservas de nutrientes e de manter baixos níveis de utilização de oxigênio.

A saída de *B. glabrata* da água nem sempre ocorre em resposta direta às condições adversas do meio. Paraense (1957) foi o primeiro a observar que os indivíduos no estádio juvenil (3 mm a 5 mm de diâmetro de concha) de certas amostras de *B. glabrata* mantidas em laboratório apresentavam uma tendência acentuada a sair da água, mesmo na ausência de condições ambientais desfavoráveis. À emigração espontânea da água seguiam-se a retração do caramujo no interior da concha e a entrada em um estado de dormência. Entre os caramujos que haviam emigrado da água, Paraense verificou também uma tendência para persistirem nesse comportamento após serem repetidamente reintroduzidos na água. Esse conjunto de características e, principalmente, o aparente caráter endógeno da instalação e da finalização da dormência contribuíram para que Paraense classificasse o evento como uma diapausa. Tanto nos caramujos que haviam emigrado da água sob condições de laboratório favoráveis quanto nas conchas coletadas no campo, esse autor observou também um conjunto de características conquiliológicas marcadamente distintas do padrão associado ao desenvolvimento contínuo dessa espécie na água. Dentre essas características, destaca-se a ocorrência, na maioria dos casos, de lamelas próximas à abertura da concha (Figura 1), da constrição do giro corporal da concha na região das lamelas e da deflexão da abertura da concha para o lado esquerdo.

Observações subseqüentes de Richards (1963, 1964) revelaram a ocorrência dos mesmos padrões morfológicos da concha e de emigração espontânea da água precedendo a dormência prolongada em amostras de *B. glabrata* de Porto Rico. Um estudo morfométrico realizado por Pieri & Thomas (1986) mostrou que os espécimes lamelados tendem a possuir conchas relativamente mais pesadas e achatadas, com abertura menor e mais voltadas para a esquerda do que os não lamelados; além disso, caramujos com seis lamelas na abertura da concha (Figura 2) são mais propensos a emigrar espontaneamente e a entrar num estado de dormência persistente do que os demais.

Figura 1 – Formação de lamelas próxima à abertura da concha em um espécime juvenil de *Biomphalaria glabrata* que emigrou da água na ausência de condições adversas do meio, entrando em um estado de dormência persistente (diapausa). A: lamela; B: margem externa do corpo retraído na concha; C: lâmina d'água

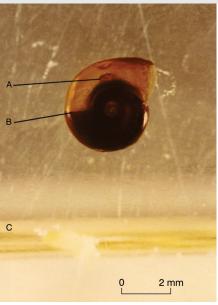
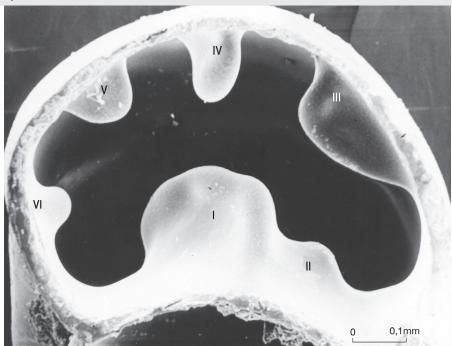



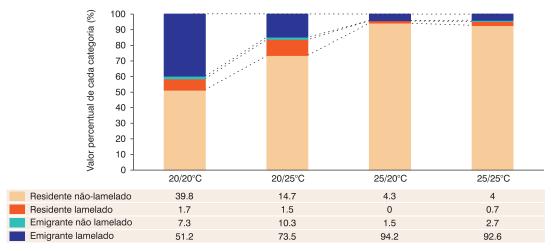
Foto: Paul Sterry.

Figura 2 – Abertura da concha de um espécime de *Biomphalaria glabrata* com um conjunto de seis lamelas (I a VI)

Micrografia: Paul Sterry.

Pieri & Thomas (1992) identificaram quatro categorias no estádio juvenil, com base na capacidade do caramujo de formar um conjunto de lamelas na abertura da concha e/ou emigrar persistentemente da água na ausência de condições adversas: residentes não lamelados (que não emigram da água nem formam lamelas), residentes lamelados, emigrantes lamelados e emigrantes não lamelados. Os residentes não lamelados tendem a ser a forma predominante em colônias de laboratório mantidas sob condições padronizadas quanto à temperatura (24°C-26°C). No entanto, aqueles autores mostraram experimentalmente que, em uma colônia de *B. glabrata* de laboratório oriunda de um ambiente sazonal no Nordeste, 93% dos caramujos criados a 18 ± 1°C (dezoito mais ou menos um grau Celsius) logo após a eclosão, tornaram-se emigrantes lamelados ao atingirem o estádio juvenil; porém, nenhum dos caramujos mantidos a 30 ± 1°C desde a eclosão apresentou essas características. Já um estudo realizado por Cooper, Richards & Lewis (1992), com temperaturas variando de 18°C a 27°C, mostrou que um período relativamente longo (mais de seis semanas) de exposição à baixa temperatura pode ser necessário para induzir formação de lamela e saída da água.

Em um estudo experimental complementar, Dannemann & Pieri (1991) testaram a ocorrência de diferenças nas proporções das quatro formas em caramujos submetidos à baixa temperatura desde o estádio embrionário até o neonato (< 3 mm de diâmetro de concha), somente durante o estádio embrionário ou somente durante o estádio juvenil. Os residentes não lamelados foram a categoria predominante nos diferentes regimes de temperatura, atingindo as maiores percentagens nos grupos criados a 25 ± 1°C durante o estádio embrionário. No entanto, as proporções de emigrantes lamelados foram significativamente maiores nos grupos criados sob baixa temperatura (20 ± 1°C) durante o estádio embrionário do que nos demais grupos (Figura 3).

Figura 3 – Formação de lamelas e emigração da água em *Biomphalaria glabrata* submetida aos seguintes regimes de temperatura: 20 ± 1°C do estádio embrionário até o juvenil (20/20); 20 ± 1°C no estádio embrionário e 25 ± 1°C no juvenil (20/25); 25 ± 1°C no estádio embrionário e 20 ± 1°C no juvenil (25/20); e 25 ± 1°C do estádio embrionário até o juvenil (25/25)

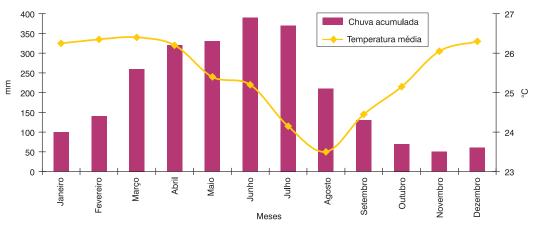
	20/20°C	20/25°C	25/20°C	25/25°C
Residente não-lamelado	39.8	14.7	4.3	4
Residente lamelado	1.7	1.5	0	0.7
Emigrante não lamelado	7.3	10.3	1.5	2.7
Emigrante lamelado	51.2	73.5	94.2	92.6

Fonte: Danneman & Pieri (1991).

Em outro estudo, Dannemann & Pieri (1992) lograram induzir a formação de lamelas e emigração da água em quase 100% dos caramujos no estádio juvenil, criando-os a 21°C em um sistema de fluxo contínuo desde a eclosão, ao passo que nos mantidos a 25°C a ocorrência de formas emigrantes lameladas foi de apenas 10%. No entanto, esses autores reconheceram que as colônias recentemente estabelecidas em laboratório são mais propensas a produzir formas emigrantes lameladas do que as colônias mais antigas. Esse fato já havia sido assinalado por Barbosa (1989), que registrou 39% de formas emigrantes lameladas um mês após a fundação de uma colônia de *B. glabrata* em um sistema de fluxo contínuo mantido a 26°C, mas nenhuma ocorrência do fenômeno ao final de 12 meses.

Estudos de Richards (1967) e de Cooper, Richards & Lewis (1992) sobre a hereditariedade desse fenômeno indicam que, embora seja controlado geneticamente, ele não segue o padrão mendeliano. Mesmo selecionando emigrantes lamelados por várias gerações, não é possível obter linhagens isogênicas. Por outro lado, colônias mantidas em laboratório por décadas continuam a produzir progênie que retém a capacidade de formar lamelas e emigrar da água. Para aqueles autores, esses traços podem ser transmitidos a gerações futuras mesmo na ausência de fortes pressões seletivas. Assim, os genes envolvidos não são facilmente perdidos no processo normal de mutação e deriva gênica, e mesmo as populações não sujeitas a secas periódicas podem manter a habilidade de formar lamelas e emigrar espontaneamente da água, embora não a expressem fenotipicamente. Como foi ressaltado por Richards (1968), uma população de *B. glabrata* isogênica, em que todos os indivíduos formassem lamelas e emigrassem da água, estaria em desvantagem seletiva na competição com indivíduos que se desenvolvem normalmente sob condições favoráveis.

Essa capacidade de formação de lamelas, emigração espontânea da água e dormência persistente em indivíduos de determinadas populações de *B. glabrata* pode ter um caráter antecipatório em relação às condições ambientais adversas. Essa hipótese foi inicialmente proposta por Paraense (1957), ao notar que essas características predominavam em colônias de laboratório provenientes de localidades situadas na zona costeira oriental nordestina, caracterizada por uma marcada sazonalidade climática.

Na área costeira oriental do Nordeste, a estação chuvosa vai de abril a julho, coincidindo com uma diminuição progressiva da temperatura (Figura 4). Depois de agosto, as temperaturas voltam a subir, as chuvas decrescem e o volume de água nos criadouros diminui progressivamente. Entre novembro e março, a maioria dos criadouros de *B. glabrata* seca (1962). Diante desse fato, Pieri & Thomas (1992) levantaram a hipótese de que as baixas temperaturas que precedem a estação seca constituiriam um estímulo capaz de sinalizar a adversidade ambiental futura aos caramujos. Assim, os caramujos sofreriam modificações morfológicas, fisiológicas e comportamentais de uma forma pré-adaptativa, isto é, em antecipação ao advento da estação seca. Os caramujos que saem da água antes que os criadouros sequem têm uma vantagem seletiva sobre os demais, pois entram em dormência nos locais mais protegidos, sob a densa vegetação marginal. Por outro lado, os caramujos que não respondem ao estímulo preditivo e permanecem na água acabam mais expostos a fatores adversos, como radiação ultravioleta, alta temperatura, dessecação ou predação, à medida que os criadouros secam.

Figura 4 – Variação mensal da chuva acumulada e da temperatura média diária na região metropolitana de Recife (normais climatológicas 1961-1990)

Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (Inmet).

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

A possibilidade de induzir a ocorrência de diapausa em colônias de laboratório ou de prever sua ocorrência em populações de campo abre perspectivas para estimar a distribuição geográfica da diapausa em áreas endêmicas da esquistossomose. Assim, a criação de caramujos em laboratório a baixas temperaturas desde a eclosão até o estádio juvenil, bem como a realização de amostragens sistemáticas de moluscos nos criadouros durante a estação seca, pode revelar a presença de espécimes lamelados em estado de dormência. Nessa perspectiva, Dannemann & Pieri (1993a) testaram 46 populações de *B. glabrata*, constatando que apenas oito não tinham esse potencial (Tabela 1).

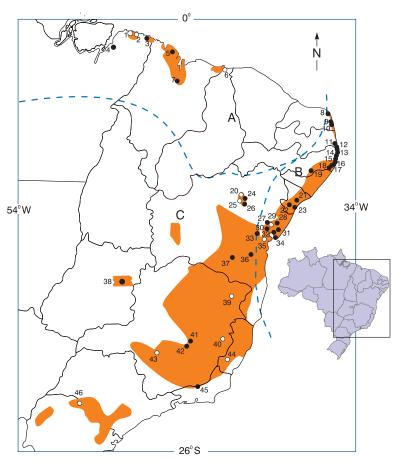
Tabela 1 – Ocorrência (S) ou não (N) de polimorfismo quanto à formação de lamelas e/ou emigração da água em *Biomphalaria glabrata* originária de 46 localidades em diferentes estados brasileiros. Os números referem-se à localização geográfica no mapa da Figura 5

Localidade e ocorrência de polimorfismo		Número na Figura 5	Localidade e ocorrência de polimorfismo		Número na Figura 5
Primavera (PA)	N	1	Saúde (BA)	S	24
Bragança (PA)	N	2	Jacobina (BA)	S	25
Viseu (PA)	S	3	Várzea do Poço (BA)	S	26
Belém (PA)	S	4	Irará (BA)	S	27
Cururupu (MA)	S	5	Alagoinhas (BA)	S	28
Parnaíba (PI)	N	6	Pedrão (BA)	S	29
São João Batista (MA)	S	7	Coração de Maria (BA)	S	30
Touros (RN)	S	8	Catu (BA)	S	31
Estremoz (RN)	S	9	São Sebastião do Passé (BA)	S	32

Tabela 1 – Ocorrência (S) ou não (N) de polimorfismo quanto à formação de lamelas e/ou emigração da água em *Biomphalaria glabrata* originária de 46 localidades em diferentes estados brasileiros. Os números referem-se à localização geográfica no mapa da Figura 5 (continuação)

Localidade e ocorrência de polimorfismo		Número na Figura 5	Localidade e ocorrência de polimorfismo		Número na Figura 5
Nísia Floresta (RN)	S	10	Castro Alves (BA)	S	33
Alhandra (PB)	S	11	Salvador (BA)	S	34
Caapora (PB)	S	12	Muniz Perreira (BA)	N	35
Itamaracá (PE)	S	13	Jequié (BA)	S	36
Pau Amarelo (PE)	S	14	Tanhaçu (BA)	S	37
Paulista (PE)	S	15	Brasília (DF)	S	38
Olinda (PE)	S	16	Medina (MG)	N	39
Recife (PE)	S	17	Capitão Andrade (MG)	N	40
Pontezinha (PE)	S	18	Santa Luzia (MG)	S	41
Miracica (PE)	S	19	Belo Horizonte (MG)	S	42
Senhor do Bonfim (PE)	N	20	Doresópolis (MG)	S	43
Rosário do Catete (SE)	S	21	Conceição do Castelo (ES)	S	44
Riachuelo (SE)	S	22	Sumidouro (RJ)	S	45
Aracaju (SE)	S	23	Primeiro de Maio (PR)	N	46

A distribuição geográfica da diapausa pode ser analisada de acordo com a divisão geoclimática do Brasil (Nimer, 1977), que leva em conta a distribuição sazonal da pluviosidade. Essa divisão é demonstrada na Figura 5, onde a área A se caracteriza por uma concentração de chuvas nos meses de verão-outono. A área B é a única caracterizada pela seca de verão. A área C tem a maior concentração de chuvas nos meses de verão. É de se esperar, portanto, que a maior proporção de populações associadas à formação de lamelas e/ou emigração da água ocorra na área costeira oriental do Nordeste (área B). Com efeito, das 24 amostras de *B. glabrata* testadas nessa área, 22 (92%) exibiram pelo menos uma dessas características. Já nas amostras provenientes das duas outras áreas geoclimáticas, onde não há estação seca ou ela não é precedida por baixas temperaturas, essa proporção não chega a 60%.

Figura 5 – Distribuição geográfica de populações polimórficas de *Biomphalaria glabrata* quanto à formação de lamelas e saída da água. Os círculos brancos indicam populações sem essas características. Os números se referem às localidades listadas na Tabela 1. A área hachurada indica a distribuição dessa espécie no Brasil. As linhas tracejadas mostram as seguintes divisões geoclimáticas: A, Norte; B, Nordeste oriental; C, Centro-Sul

Fonte: Dannemann & Pieri (1993a).

SOBREVIVÊNCIA FORA D'ÁGUA

A habilidade de alguns indivíduos de *B. glabrata* formarem lamelas na abertura da concha, emigrarem da água na ausência de condições adversas do meio e entrarem num estado de dormência persistente ainda no estádio juvenil implica pelo menos duas desvantagens em relação aos que não exibem essas características:

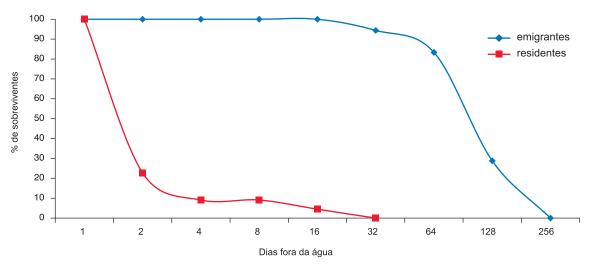
- interrupção do desenvolvimento antes da fase reprodutiva;
- parada do crescimento, apesar da disponibilidade de nutrientes.

Para compensar, espera-se que aqueles sejam mais bem adaptados à ação de fatores adversos na zona ecótona, como predadores terrestres e dessecação. Richards (1963, 1964) argumentou que a formação de lamelas e o espessamento da concha aumentam a resistência às forças de compressão; além disso, a redução

da área da abertura da concha e a produção de membranas transparentes (epifragmas) junto à margem do corpo retraído podem dificultar a ação de pequenos predadores e aumentar a resistência à dessecação.

Quanto à dessecação, Richards (1967) comparou os caramujos lamelados que haviam emigrado espontaneamente da água com os caramujos não lamelados de uma mesma amostra, que haviam sido retirados da água. Após um dia, 71% dos caramujos do primeiro grupo continuavam vivos, enquanto todos os caramujos do segundo grupo haviam morrido. A sobrevivência fora da água por dez meses foi observada em quase 1% dos caramujos emigrantes.

Dannemann & Pieri (1993b) também realizaram um experimento para testar a capacidade de sobrevivência de um grupo de caramujos que emigraram espontaneamente da água e entraram num estado de dormência persistente, em comparação com outro grupo, retirado da água enquanto ainda ativo. Nesse estudo, os caramujos de ambos os grupos foram mantidos fora da água a 95% de umidade relativa para maximizar a sobrevivência, e observados a intervalos de tempo exponencialmente crescentes. Os resultados estão resumidos na Figura 6. Entre os emigrantes, mais de 90% estavam vivos depois de 32 dias fora da água. Já entre os residentes, quase 90% haviam morrido depois de oito dias fora da água. No primeiro grupo foram encontrados sobreviventes mesmo após quatro meses, ao passo que, no segundo, nenhum foi encontrado vivo após um mês.

Figura 6 – Sobrevivência, fora da água, de formas juvenis (diâmetro da concha: 3-5 mm) de *Biomphalaria glabrata*. Emigrantes, espécimes que saíram da água espontaneamente e entraram em um estado de dormência persistente; residentes, espécimes que estavam em atividade e foram retirados da água

Fonte: Dannemann & Pieri (1993b).

Esses estudos permitem supor que as diferenças nas taxas de sobrevivência entre caramujos emigrantes e residentes sejam devidas principalmente a diferenças de ordem fisiológica. A ausência de água força o caramujo a retrair-se na concha, reduzindo a superfície de contato com o ar e, conseqüentemente, a perda de água. No entanto, nessas condições o caramujo é obrigado a sobreviver apenas com as reservas de água e de nutrientes disponíveis nos tecidos, e com um suprimento reduzido de oxigênio. Além disso, fica sujeito aos efeitos tóxicos de seus restos metabólicos. Assim, é de se esperar que a sobrevivência prolongada

de um caramujo fora da água dependa de sua habilidade de reter umidade, conservar reservas metabólicas e oxigênio, além de anular os efeitos tóxicos dos excretas acumulados nos tecidos.

As seguintes adaptações fisiológicas podem ser de importância crucial para a sobrevivência prolongada dos caramujos fora da água (Pieri, 1986):

- a formação de um gradiente osmótico no epitélio, reduzindo assim a perda de água;
- a queda no consumo de oxigênio e no metabolismo geral, resultando em maior conservação de energia;
- acúmulo de reservas (carboidratos, lipídios e proteínas) suficientes para o período de dormência;
- excreção principalmente uricotélica, evitando, assim, a acumulação de amônia e facilitando a retenção de água.

Entretanto, são necessários ainda estudos comparativos para verificar se essas adaptações são mais bem desenvolvidas nos caramujos emigrantes do que nos residentes.

Além das adaptações de ordem fisiológica, vários fatores do ambiente podem diminuir os efeitos da dessecação sobre caramujos fora da água. Fendas do substrato, locais sob pedras, vegetação ou material em decomposição podem constituir microambientes favoráveis à sobrevivência de caramujos durante o período de dormência fora da água, minimizando os efeitos de fatores adversos, tais como as altas temperaturas e a exposição direta à radiação solar, que intensificam as perdas de água por evaporação. Além disso, a formação de orvalho, a ascensão da umidade contida no subsolo e a ocorrência de chuvas esporádicas durante a estação seca, apesar de não serem suficientes para reconstituir os criadouros, levariam a umidade aos microambientes protegidos onde se encontram os caramujos em estado de dormência.

A incorporação de estados de dormência ao ciclo de vida de *B. glabrata*, sejam antecipatórios ou não, pode representar uma adaptação que leva à sobrevivência de parte dos caramujos que tenham se afastado da água. Como assinalado por Paraense (1957), a localização desses caramujos em ambientes abrigados à margem dos criadouros e sua retração no interior da concha em um estado dormente aumentam a probabilidade de estes caramujos escaparem da ação de moluscicidas solúveis em água e recolonizarem os criadouros com o retorno das condições propícias. Richards (1967) sugeriu que esse aspecto é parte integrante da dinâmica de certas populações de *B. glabrata*, que estariam adaptadas a repovoar ciclicamente seus criadouros após o período de seca.

Com base nos conhecimentos agora revistos, duas categorias de eventos envolvendo a interrupção do desenvolvimento e da atividade de *B. glabrata* podem ser claramente distinguidas. De um lado, a interrupção pode dar-se em resposta imediata às condições desfavoráveis do ambiente em qualquer estádio de desenvolvimento. Alternativamente, a interrupção está restrita a um estádio imaturo desta espécie, ocorrendo prospectivamente em relação às condições ambientais desfavoráveis. A este segundo tipo de evento se associam algumas características morfológicas, fisiológicas e comportamentais distintas (Figura 7).

Duas estratégias de sobrevivência, diapausa e anidrobiose, podem ser distinguidas em *B. glabrata* de hábitats sujeitos a secas sazonais. A diapausa é induzida por estímulos ambientais de valor preditivo, o que permite ao caramujo evitar a deterioração dos criadouros no período de seca. Caracteriza-se por uma seqüência de eventos geralmente na fase juvenil, que inclui formação de lamela na abertura da concha e emigração da água seguida de dormência persistente, e ocorre sob condições favoráveis do

meio. Anidrobiose é um estado de dormência prolongada diretamente deflagrado por fatores adversos, como a dessecação do hábitat. Pode ocorrer em qualquer estágio da vida do caramujo, sem haver formação de lamela ou emigração da água. Caramujos em diapausa são mais resistentes à dessecação do que os anidrobiontes. Os primeiros tendem a persistir no estado dormente, ao passo que os últimos retornam prontamente à atividade com o restabelecimento de condições propícias do ambiente.

Figura 7 – Estratégias de sobrevivência de *Biomphalaria glabrata* em hábitats sujeitos a secas sazonais

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

Um aspecto relevante para a epidemiologia da esquistossomose é que os caramujos em estado de dormência fora da água podem albergar formas imaturas de *Schistosoma mansoni*, as quais são capazes de retomar seu desenvolvimento quando o hospedeiro retorna à atividade normal. Assim, Barbosa & Barbosa (1958) observaram esporocistos primários de *S. mansoni* em 21 exemplares de *B. glabrata* coletados ao longo de três anos consecutivos em uma localidade de Pernambuco, representando 2,2% da amostra de 969 caramujos que se encontravam fora da água. No caso de pelo menos um desses caramujos, os autores estimaram em quatro meses o tempo de manutenção da infecção por *S. mansoni* durante o tempo de sua permanência fora da água. A sobrevivência de esporocistos primários de *S. mansoni* nos exemplares de *B. glabrata* que formaram lamelas e emigraram espontaneamente da água foi acompanhada por Richards (1967) em laboratório, atingindo, em um caso extremo, sete meses. Cooper, Richards & Lewis (1992) expuseram caramujos juvenis à infecção por miracídios de *Schistosoma mansoni* e verificaram, nos que logo depois formaram lamelas e emigraram da água, uma produção de cercárias comparável à dos que não formaram lamelas nem emigraram da água.

Não se tem conhecimento da sobrevivência de estágios mais maduros de *S. mansoni* no período em que o caramujo permanece fora da água. Porém, a possibilidade de *B. glabrata* completar o ciclo de transmissão da esquistossomose após o período de dormência, mesmo na ausência de novas introduções de ovos do parasito nos criadouros, representa um aspecto relevante para a epidemiologia desta parasitose.

Além disso, o elevado potencial reprodutivo dessa espécie, juntamente com sua capacidade de autofecundação, são aspectos fundamentais para a rápida recolonização dos criadouros, mesmo que somente um único indivíduo sobreviva ao período de dormência fora da água (Olivier & Barbosa, 1955).

Um outro aspecto epidemiológico importante diz respeito à eficiência das medidas de controle dos caramujos. Como assinalado por Paraense (1957), a saída espontânea da água para locais abrigados à margem dos criadouros, bem como sua retração no interior da concha em um estado de dormência persistente, aumentam a probabilidade de esses caramujos escaparem da ação de moluscicidas solúveis em água e recolonizarem os criadouros com o retorno das condições propícias. Como tais características estão potencialmente presentes na quase totalidade das populações de *B. glabrata* na área costeira oriental do Nordeste (Figura 5), as medidas de controle da esquistossomose ali implementadas devem levar em conta esse aspecto. Assim, a aplicação de niclosamida, sob a forma de pó molhável, nos criadouros daquela área deve ser conjugada com medidas de manejo ambiental, como a remoção da vegetação marginal e de detritos, visando alcançar os caramujos que estejam eventualmente fora da água.

Um exemplo da necessidade de se levar em conta essa habilidade de *B. glabrata*, em áreas endêmicas da esquistossomose em nosso país, foi a ocorrência recente de um surto de esquistossomose em Porto de Galinhas, uma estância turística no litoral de Pernambuco. Nessa localidade, até então indene para a esquistossomose, 662 pessoas tiveram diagnóstico positivo para *S. mansoni* após uma enchente ocorrida em julho de 2000 (Barbosa et al., 2001). Os terrenos mais próximos ao mar são objetos de especulação imobiliária, havendo vários loteamentos para veraneio da população de classes média e alta. As áreas mais periféricas são ocupadas desordenadamente por famílias de trabalhadores da construção civil e/ou desempregados, que servem de mão-de-obra barata na área. Essas famílias são oriundas de outros municípios, muitos dos quais endêmicos para a esquistossomose.

Um levantamento malacológico foi realizado em outubro de 2000, envolvendo a busca ativa de focos dos vetores nos quintais, terrenos abandonados e nas águas salinizadas do estuário do rio Ipojuca. Os caramujos coletados foram levados para o laboratório e expostos à luz para se detectar a emissão de cercárias de *S. mansoni*. Esse inquérito revelou que:

- a única espécie hospedeira intermediária em toda a área era *B. glabrata*;
- sua taxa de infecção natural foi de 48%;
- nenhum exemplar da espécie foi encontrado nas águas do rio Ipojuca;
- na área onde ocorreram os casos da doença não havia coleções hídricas permanentes capazes de albergar os caramujos por períodos prolongados;
- inúmeros caramujos daquela espécie foram encontrados nos quintais das residências e terrenos alagados;
- uma grande quantidade de conchas de *B. glabrata* foram encontradas em estoques de areia, procedente de rios de várias regiões de Pernambuco, usada nas obras locais.

Uma explicação plausível para a introdução dos caramujos na área de Porto de Galinhas é que ela tenha ocorrido junto com a areia trazida de outras áreas para uso nas construções e na aterragem de ruas e terrenos. A infecção dos caramujos teria se dado por contaminação fecal direta, a partir de dejetos oriundos das residências sem instalações sanitárias que predominam na periferia. Com a enchente, os

caramujos infectados eram levados pelas águas, espalhando-se pelas ruas e invadindo quintais ou mesmo o interior das residências.

O surto de esquistossomose, diagnosticado em outubro de 2000, provavelmente ocorreu em conseqüência do intenso contato peridomiciliar e intradomiciliar dos moradores com as águas contaminadas. Esse contato, iniciado em julho com a enchente, deve ter-se prolongado até setembro. Com o término do período chuvoso, as águas começaram a baixar, mas os charcos e poças nas ruas e quintais continuaram a albergar caramujos *B. glabrata* nos meses subseqüentes, mantendo os focos peridomiciliares. Esses focos foram tratados com moluscicida pela Fundação Nacional de Saúde; porém, a transmissão só deve ter cessado quando os criadouros secaram completamente.

Levantamentos malacológicos subseqüentes foram realizados para monitorar a colonização de *B. glabrata* na área. Mesmo não havendo, ali, criadouros permanentes e apesar da aplicação de moluscicidas nos criadouros em 2000, ainda são encontradas populações dessa espécie em coleções de água temporárias.

Em setembro de 2003, foi feita uma inspeção malacológica na localidade e a maioria das coleções de água já estavam secas. No entanto, foram encontrados vários exemplares de *B. glabrata*, entre a vegetação e sob a lama remanescente, retraídos em estado de dormência, em cujas conchas havia lamelas. Esses achados deixam patente que, nessa localidade, ainda há condições propícias para a transmissão sazonal da esquistossomose, agravadas pela presença de formas lameladas do hospedeiro intermediário. A capacidade desses caramujos de sobreviverem à estação seca e repovoarem as coleções de água sazonais, inclusive albergando formas imaturas de *S. mansoni*, tornam o controle da esquistossomose mais difícil nas áreas onde ocorrem. Diante desse quadro, fica claro que somente medidas integradas, visando controlar não apenas a morbidade, mas também a transmissão dessa endemia, terão êxito.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, C. S. et al. An outbreak of acute schistosomiasis at Porto de Galinhas beach, Pernambuco, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, 17(3): 725-728, 2001.

BARBOSA, F. S. Mass migration of juvenile *Biomphalaria glabrata* snails bred under semi-natural conditions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 84(IV): 53-56, 1989.

BARBOSA, F. S. & BARBOSA, I. Dormancy during the larval stages of the trematode *Schistosoma mansoni* in snails estivating on the soil of dry natural habitats. *Ecology*, 39: 763-764, 1958.

COOPER, L. A.; RICHARDS, C. S. & LEWIS, F. A. Schistosoma mansoni infection in diapausing *Biomphalaria glabrata* snails: studies of temperature and genetic influences on diapausing behavior. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 47(4): 498-504, 1992.

DANNEMANN, R. D. A. & PIERI, O. S. Some effects of low temperature on a laboratory population of polymorphic *Biomphalaria glabrata* (Say) from north-east Brazil. *Proceedings of the Tenth International Malacological Congress*, [s.n], 1991.

DANNEMANN, R. D. A. & PIERI, O. S. Lamella formation and emigration from the water by a laboratory colony of *Biomphalaria glabrata* (Say) in a flow-through system. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87(1): 87-90, 1992.

DANNEMANN, R. D. A. & PIERI, O. S. Emigration from the water and lamella formation by *Biomphalaria glabrata* (Say) from different localities in the endemic areas of schistosomiasis in Brazil. *Journal of Medical and Applied Malacology*, 5: 31-37, 1993a.

DANNEMANN, R. D. A. & PIERI, O. S. Prolonged survival out of water of polymorphic *Biomphalaria glabrata* (Say) from a seasonally drying habitat of North-East Brazil. *The Journal of Molluscan Studies*, 59(2): 263-265, 1993b.

NIMER, E. Clima. In: IBGE (Ed.). *Geografia do Brasil: região Nordeste*. Rio de Janeiro: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1977.

OLIVIER, L. & BARBOSA, F. S. Seasonal studies on *Australorbis glabratus* (Say) from two localities in Eastern Pernambuco, Brazil. *Publicações Avulsas do Instituto Aggeu Magalhães*, 4: 79-103, 1955.

PARAENSE, W. L. Apertural lamellae in *Australorbis glabratus*. *Proceedings of the Malacological Society of London*, 32(4): 175-179, 1957.

PIERI, O. S. *Studies on the Host Snails of Schistosomiasis from North-East Brazil, with Special Reference to Diapause in* Biomphalaria glabrata *(Say)*, 1986. Ph.D. Thesis, Sussex: University of Sussex.

PIERI, O. S. & THOMAS, J. D. Polymorphism in a laboratory population of *Biomphalaria glabrata* from a seasonally drying habitat in north-east Brazil. *Malacologia*, 27(2): 313-321, 1986.

PIERI, O. S. & THOMAS, J. D. Induction of morphological, bahavioural and physiological changes in a polymorphic population of *Biomphalaria glabrata* by an environmental factor of predictive value. *Journal of Medical and Applied Malacology*, 4: 43-56, 1992.

RICHARDS, C. S. Apertural lamellae, epiphragms, and aestivation of planorbid mollusks. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 12(2): 254-263, 1963.

RICHARDS, C. S. Apertural lamellae as supporting structures in *Australorbis glabratus*. *Nautilus*, 78: 57-60, 1964.

RICHARDS, C. S. Estivation of *Biomphalaria glabrata* (Basommatophora: planorbidae), associated characteristics and relation to infection with *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 16: 797-802, 1967.

RICHARDS, C. S. Aestivation of *Biomphalaria glabrata* (Basommatophora: planorbidae). Genetic Studies. *Malacologia*, 7: 109-116, 1968.

A matriz energética brasileira baseia-se na energia gerada por usinas hidrelétricas, principalmente pela riqueza da rede fluvial que o país apresenta. Além das implicações político-sociais e das conseqüências negativas à biodiversidade, as grandes transformações ambientais decorrentes desses empreendimentos promovem mudanças ambientais que propiciam a instalação de vetores e, muitas vezes, o surgimento de focos de doenças por eles transmitidas. Para mitigar estes impactos, os empreendedores devem implementar ações compensatórias, entre elas, a de monitoramento da fauna, todas sob a fiscalização dos órgãos ambientais competentes.

Nesse contexto, em colaboração com Furnas Centrais Elétricas e Enerpeixe S.A., a equipe do Laboratório de Malacologia do Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz) realizou o levantamento da malacofauna límnica e o monitoramento das espécies vetoras de parasitoses em áreas de influência das usinas hidrelétricas de Serra da Mesa (Goiás), de Peixe Angical (Tocantins) e do Aproveitamento Múltiplo de Manso (Mato Grosso). As duas primeiras encontram-se no rio Tocantins, o qual até o presente apresenta seis usinas hidrelétricas em operação e um número ainda maior de usinas projetadas, aguardando os licenciamentos necessários para o início das obras. A Usina do Aproveitamento Múltiplo de Manso (APM Manso) está localizada na bacia do rio Paraguai, um dos principais formadores do Pantanal Mato-grossense, cuja paisagem e riqueza faunística o colocam, sem dúvida, entre os mais belos e ricos ecossistemas brasileiros.

Nos 37 municípios investigados foram obtidos moluscos pertencentes às famílias Ampullariidae, Ancylidae, Corbiculidae, Hydrobiidae, Lymnaeidae, Physidae, Planorbidae, Sphaeriidae e Thiaridae, totalizando 36 espécies (28 gastrópodes e oito bivalves). A disseminação e o estabelecimento da espécie vetora da esquistossomose no reservatório da Usina Hidrelétrica de Serra da Mesa (UHSM); a substituição de espécies após a transformação do ambiente lótico em lêntico; a ocorrência de espécies exóticas; o primeiro registro da cópula e da postura do gastrópode *Marisa planogyra* Pilsbry, 1933 e a capacitação de profissionais da área da saúde dos municípios do entorno dos reservatórios em técnicas relacionadas à prevenção e ao controle da esquistossomose, encontram-se entre os aspectos epidemiológicos e ecológicos abordados.

O Brasil encontra-se entre os países com maior quantidade de águas interiores do mundo, com aproximadamente 12% do total mundial. Diante dessa riqueza da rede fluvial, houve uma opção político-econômica pela construção de grandes projetos hídricos, envolvendo quase totalmente o aproveitamento hidrelétrico (Leme, 2004). Alguns rios, como o Tocantins, apresentam características que favorecem tais aproveitamentos, como por exemplo, a diferença de nível ou altura de queda e a vazão (Müller, 1995). O incremento na construção de barragens é preocupante, tanto sob o ponto de vista puramente biológico quanto epidemiológico, pois a esquistossomose, da mesma forma que a malária e a febre amarela, encontra-se entre as doenças endêmicas mais importantes associadas a ambientes impactados pelo desenvolvimento de grandes projetos econômicos, entre eles a construção de usinas hidrelétricas (Southgate, 1997). Na fase de construção as usinas atraem muitos operários, provenientes de várias regiões, inclusive de áreas endêmicas de esquistossomose e, uma vez formado, o reservatório, além de propiciar condições favoráveis ao desenvolvimento do molusco vetor, estimula o contato mais freqüente da população, com atividades de lazer como a pesca e o banho.

A dificuldade de previsão do surgimento de surtos de endemias decorrentes desses empreendimentos e a existência de situações peculiares em cada um deles tornam extremamente necessários estudos preventivos na área, a tempo de serem executadas possíveis medidas de atenuação. No Brasil, somente em 1986 foram instituídas medidas a serem implementadas pelos empreendedores, visando minimizar os impactos ambientais decorrentes da contenção de rios, devido à construção de usinas hidrelétricas (Conama, 1986). A avaliação de impacto ambiental (AIA), bem como o respectivo relatório de impacto ambiental (Rima), estão entre essas medidas. Dessa forma, em colaboração com Furnas Centrais Elétricas e Enerpeixe S.A., a equipe do Laboratório de Malacologia do Instituto Oswaldo Cruz da Fundação Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz) vem realizando o levantamento da malacofauna límnica e o monitoramento das espécies vetoras de parasitoses em áreas de influência das usinas hidrelétricas de Serra da Mesa (GO), de Peixe Angical (TO) e do Aproveitamento Múltiplo de Manso (MT). As duas primeiras encontram-se no rio Tocantins, o qual até o presente apresenta seis usinas hidrelétricas em operação e um número ainda maior de usinas projetadas, aguardando os licenciamentos necessários para o início das obras (Tabela 1). A Usina do Aproveitamento Múltiplo de Manso (APM Manso) está localizada na bacia do rio Paraguai, um dos principais formadores do Pantanal Mato-grossense, cuja paisagem e riqueza faunística o colocam, sem dúvida, entre os mais belos ecossistemas brasileiros.

As áreas de estudo compreenderam os municípios sob influência direta dos reservatórios, bem como alguns municípios adjacentes. A Usina do APM Manso está localizada na Chapada dos Guimarães, na confluência dos rios Casca e Manso (Figura 1), ao passo que a Usina Hidrelétrica de Serra da Mesa (UHSM) e a Usina Hidrelétrica de Peixe Angical (AHE Peixe Angical) localizam-se nos municípios de Minaçu e Peixe, respectivamente (Figuras 2 e 3).

As buscas por biótopos favoráveis à ocorrência de moluscos límnicos foram realizadas nos reservatórios formados pela construção das barragens, em rios, riachos, lagoas, brejos, valas de esgoto e de drenagem, caixas d'água e bebedouros de animais (Figuras 4 a 6). Inicialmente foram realizados estudos qualitativos da malacofauna límnica, com ênfase nos gastrópodes límnicos, registrando as coordenadas geográficas e, quando possível, o pH e o oxigênio da água, além da temperatura da água e do ar. Definidas as áreas epidemiologicamente mais importantes, segundo critérios como a maior freqüência da presença do homem na área (Figuras 7 e 8) ou a presença de moluscos vetores ou exóticos, foi iniciado um estudo quantitativo, segundo Olivier & Schneiderman (1956).

Tabela 1 – Usinas hidrelétricas na bacia hidrográfica do Tocantins

UHE	Situação	Potência MW	Municípios	Estado
Cana Brava	Em operação	450	Cavalcante, Colinas do Sul e Minaçu	Goiás
Estreito	Em construção	1.087	Itaguatins e Imperatriz	Tocantins e Maranhão
Luis Eduardo Magalhães (ex Lajeado)	Em operação	902,5	Lajeado, Palmas, Porto Nacional, Miracema do Tocantins, Brejinho de Nazaré, Aliança do Tocantins, Ipueiras e Santa Rosa do Tocantins	Tocantins
Marabá	Em planejamento	2.160	Marabá e São João do Araguaia	Pará e Maranhão
São Salvador	Em construção	241	São Salvador do Tocantins, Paraná, São Salvador, Palmeiropólis, Minaçu e Cavalcante	Tocantins e Goiás
Serra da Mesa	Em operação	1.275	Barro Alto, Campinaçu, Campinorte, Colinas do Sul, Minaçu, Niquelândia e Santa Rita do Novo Destino	Goiás
Serra Quebrada	Em planejamento	1.328	Itaguatins e Imperatriz	Tocantins e Maranhão
Peixe Angical	Em operação	452	Peixe, São Salvador do Tocantins, Paranã, São Salvador e Palmeirópolis	Tocantins
Tucuruí I e II	Em operação	8.370	Tucuruí	Pará
Tocantins	Em planejamento	480	Ipueiras e Brejinho de Nazaré	Tocantins
Tupiratins	Em planejamento	620	Tupiratins e Itupiratins	Tocantins

Figura 1 – Usina Hidrelétrica do Aproveitamento Múltiplo de Manso, Mato Grosso

Figura 2 – Usina Hidrelétrica de Serra da Mesa, Goiás

Fonte: Furnas Centrais Elétricas.

Figura 3 – Usina Hidrelétrica de Peixe Angical, Tocantins

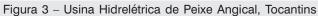



Figura 4 – Coleta de moluscos em lagoas marginais formadas pelas cheias do rio Cuiabá, Santo Antônio do Leverger, Mato Grosso

Figura 5 – Coleta de moluscos límnicos num alagado em Paranã, Tocantins

Figura 6 – Coleta de moluscos no rio Santa Tereza, Tocantins

Figura 7 – Banhistas no reservatório da UHSM, Uruaçu, Goiás

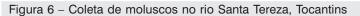
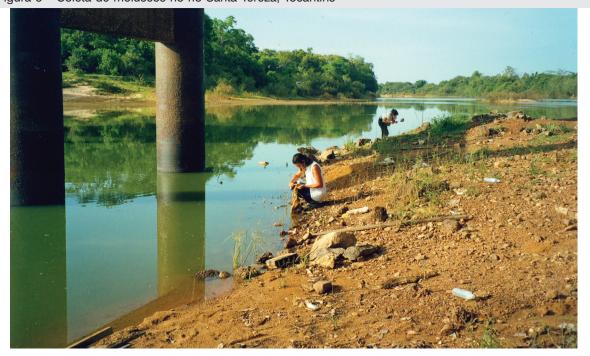
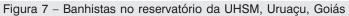



Figura 8 – Acampamento para atividades de pesca e banho no reservatório da UHSM, Niquelândia, Goiás

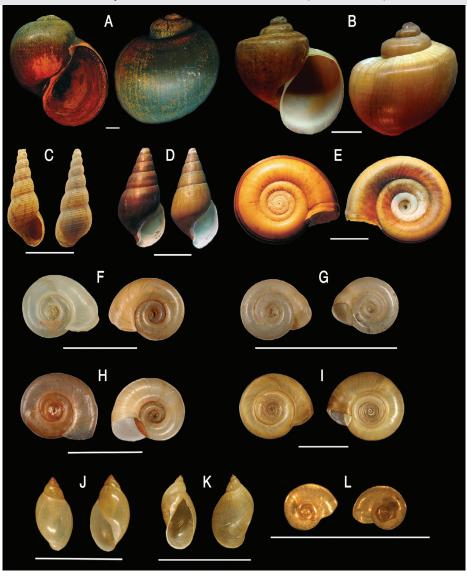
Os moluscos foram coletados com auxílio de conchas de captura ou pinças e colocados em pequenos potes plásticos, com etiquetas de identificação. No Laboratório de Malacologia do Instituto Oswaldo Cruz os moluscos foram mantidos em aquários de vidro, com água desclorada, tendo como substrato uma fina camada de argila acrescida de carbonato de cálcio e farinha de ostra e, como alimentação, alface fresca e desidratada.

A pesquisa de estádios larvais de trematódeos foi realizada mediante exposição individual dos moluscos coletados, seja à luz de lâmpadas incandescentes, seja *overnight*. Isto se justifica, uma vez que as cercárias de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 são eliminadas sob estímulo de calor e temperatura adequados, obtidos com lâmpadas incandescentes. Como existem trematódeos que possuem ciclos de vida adaptados a animais de hábitos noturnos, os moluscos foram também examinados após 12 horas no escuro. As cercárias foram examinadas vivas e fixadas, sob microscópio, para a observação das estruturas indicativas da provável família do trematódeo (Schell, 1970). Um lote de cada amostra era fixado para a identificação específica, com base nas técnicas utilizadas na rotina do laboratório (Fernandez, Thiengo & Amaral, 2008). O restante do material coletado foi examinado sob microscópio estereoscópico, após o esmagamento das conchas, para a confirmação da ausência de parasitismo.

As espécies obtidas nos 37 municípios investigados pertencem às famílias Ampullariidae, Ancylidae, Corbiculidae, Hydrobiidae, Lymnaeidae, Physidae, Planorbidae, Sphaeriidae e Thiaridae (Figura 9). Das 36 espécies presentes, 28 eram gastrópodes e oito bivalves, discriminadas a seguir: *Anodontites trapezialis* (Lamarck, 1819); *Anodontites elongatus* (Swainson, 1823); *Antillorbis nordestensis* (Lucena, 1954); *Aylacostoma tenuilabris* (Reeve, 1860); *Biomphalaria amazonica* Paraense, 1966; *Biomphalaria intermedia* (Paraense & Deslandes, 1962); *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848); *Biomphalaria occidentalis* Paraense, 1981; *Biomphalaria schrammi* (Crosse, 1864); *Burnupia ingae* Lanzer, 1991; *Castalia ambigua* Lamarck, 1819; *Corbicula fluminea* (Müller, 1774); *Drepanotrema anatinum* (Orbigny, 1835); *Drepanotrema cimex* (Moricand, 1839); *Drepanotrema depressissimum* (Moricand, 1839); *Drepanotrema lucidum* (Pfeiffer, 1839); *Eupera simoni* (Jousseaume, 1889); *Eupera tumida* (Clessin, 1879); *Ferrissia* aff. *gentilis* Lanzer, 1991; *Gundlachia radiata* (Guilding, 1828); *Gundlachia* aff. *radiata* (Guilding, 1828); *Gundlachia ticaga* (Marcus & Marcus, 1962); *Idiopyrgus* aff. *souleyetianus* Pilsbry, 1911; *Laevapex* aff. *fuscus* Adams, 1841; *Lymnaea columella* Say, 1817; *Marisa planogyra* Pilsbry, 1933; *Melanoides tuberculatus* (Müller, 1774); *Physa marmorata* Guilding, 1828; *Pisidium bejumae* Baker, 1930; *Pisidium punctiferum* (Guppy, 1867).; *Pomacea insularum* (Orbigny, 1835), *Pomacea lineata* (Spix in Wagner, 1827), *Pomacea figulina* (Spix in Wagner, 1827), *Pomacea canaliculata* (Lamarck,1822), *Pomacea scalaris* (Orbigny, 1835) e *Uncancylus concentricus* (Orbigny, 1835).

Embora não tenham sido detectadas formas larvais de *S. mansoni* e de *Fasciola hepatica* (L.) nos moluscos coletados, outros estádios larvais foram observados, tais como esporocistos, rédias ou metacercárias, pertencentes às prováveis famílias de trematódeos que se seguem: Clinostomatidae, Cryptogonimidae, Diplostomatidae, Echinostomatidae, Fasciolidae, Haplometridae, Heterophyidae, Lecithodendriidae, Macroderoididae, Microphallidae, Notocotylidae, Opisthorchiidae, Paramphistomatidae, Plagiorchiidae, Pronocephalidae, Schistosomatidae, Spirorchiidae, Strigeidae e Telorchiidae. Os tipos cercarianos foram "Amphistome cercaria", "Armatae cercaria", "Brevifurcate-apharyngeate cercaria", "Brevifurcate-pharyngeate-clinostomatoid cercaria", "Echinostome cercaria", "Gymnocephalous cercaria", "Monostome cercaria", "Ornatae cercaria", "Parapleurolophocercous cercaria", "Pleurolophocercous cercariae", "Strigea cercaria", "Ubiquita cercaria", "Virgulate cercariae" e "Xiphidiocercariae". Os ciclos

de vida de muitos desses trematódeos precisam ainda ser elucidados, abrangendo as características tanto dos estádios larvais quanto da fase adulta, bem como os hospedeiros, sejam eles moluscos (hospedeiros primário ou secundário), peixes, aves, répteis, anfíbios ou mamíferos. Mesmo assim, a análise da helmintofauna associada aos moluscos límnicos coletados na área desse estudo revelou interações molusco-parasito ainda inéditas no país (Boaventura, Thiengo & Fernandez, 2007; Thiengo, 2007).

Figura 9 – Alguns moluscos límnicos encontrados nas áreas de influência das usinas hidrelétricas de Serra da Mesa (GO), Peixe Angical (TO) e do Aproveitamento Múltiplo de Manso (MT). A: *Pomacea insularum* (Orbigny, 1835); B: *Pomacea scalaris* (Orbigny, 1835); C: *Melanoides tuberculatus* (Müller, 1774); D: *Aylacostoma tenuilabris* (Reeve, 1860); E: *Marisa planogyra* Pilsbry, 1933; F: *Biomphalaria amazonica* Paraense, 1966; G: *Biomphalaria schrammi* (Crosse, 1864); H: *Biomphalaria intermedia* (Paraense & Deslandes, 1962); I: *Biomphalaria occidentalis* Paraense, 1981; J: *Physa marmorata* Guilding, 1828; K: *Lymnaea columella* Say, 1817; L: *Antillorbis nordestensis* (Lucena, 1954). Escala = 1 cm

As alterações ambientais em decorrência da construção das barragens afetam profundamente a biodiversidade original (Tundisi, Tundisi & Rocha, 2002), influenciadas pelas mudanças físico-químicas relacionadas à passagem de um sistema lótico para lêntico. Estudos longitudinais, como o desenvolvido na área de influência da UHSM bem exemplificam as alterações na biodiversidade local. O levantamento malacológico naquela área teve início em 1996, meses antes do fechamento do rio para o enchimento do reservatório, e tem prosseguido até hoje, abrangendo as fases de pré-enchimento do reservatório (coletas realizadas em 1996), enchimento (duas campanhas em 1997 e uma em 1998) e pós-enchimento (1998 a 2007), nos oito municípios de seu entorno (Barro Alto, Campinaçu, Campinorte, Colinas do Sul, Minaçu, Niquelândia, Santa Rita do Novo Destino e Uruaçu). Essa barragem, construída no município de Minaçu (S 13º49', W 48º18'), formou o maior reservatório do Brasil em volume de água, com 54,34 bilhões de m^3, numa área de 1.784 km^2 (de Felippo et al., 1999). Thiengo, Santos & Fernandez (2005), após um estudo qualitativo, descreveram alterações observadas na malacofauna, as quais são relatadas a seguir.

Em 1996, a espécie transmissora da esquistossomose, *B. straminea*, foi encontrada em remansos do rio Bagagem no município de Niquelândia, a montante da barragem do reservatório. Na fase de enchimento, sua distribuição se restringia a poucas fazendas presentes na margem do reservatório, em pequenos troncos e galhos carreados pelos rios e riachos (Figuras 10 e 11). Na medida em que o ambiente tornava-se mais estável, em relação ao volume de água represada, várias populações de *B. straminea* puderam ser observadas com freqüência nas enseadas formadas, bem como em fazendas às margens do reservatório. Embora os dados acerca da freqüência de ocorrência, constância, riqueza e sucessão de espécies pertençam ao estudo quantitativo da fauna (campanhas realizadas no período de 2000 a 2007) e ainda estejam em fase de análises estatísticas, alguns resultados foram muito evidentes. As primeiras espécies a colonizarem o lago foram *D. anatinum* e *G. ticaga*, sendo hoje esporadicamente encontradas. A partir de 2002, houve uma intensa colonização pelo ancilídeo *G. radiata*, o qual praticamente substituiu a espécie colonizadora *G. ticaga*. *Biomphalaria occidentalis*, ao contrário de *B. straminea*, não conseguiu se estabelecer no reservatório, uma vez que foi detectada somente no município de Uruaçu, em simpatria com *B. straminea*, apenas em 1998. Sua ocorrência na área merece destaque por constituir o primeiro registro para a região e ainda por ser facilmente confundida com outro vetor que não ocorre no Centro-Oeste, *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny, 1835), uma vez que as conchas dessas duas espécies são muito semelhantes.

Antes da construção da barragem, colônias da espécie nativa *A. tenuilabris* foram observadas com freqüência, tanto a montante quanto a jusante, no rio Tocantins, bem como nos rios Almas, Bagagem e Cana Brava. Atualmente, poucos indivíduos têm sido encontrados, apenas a jusante da barragem. O desaparecimento de outras três espécies congenéricas, *Aylacostoma guaraniticum* (Scott, 1953), *Aylacostoma chloroticum* (Scott, 1953) e *Aylacostoma stigmaticum* (Scott, 1953) foi observado na Argentina, após a construção da barragem de Yaceretá no rio Paraná (Peso & Quintana, 1999). Casos semelhantes, envolvendo perda da biodiversidade em conseqüência de construção de grandes barragens estão registrados na literatura (Rosenberg, Bodaly & Usher, 1995; Seddon, s.d.).

A ocorrência de espécies exóticas, as quais têm sido alvo de grande preocupação entre os ambientalistas, por interferirem tanto no ambiente quanto nas cadeias tróficas (Cowie, Hayes & Thiengo, 2006), foi também focalizada nesse estudo. O tiarídeo afro-asiático *M. tuberculatus* foi observado em extensas áreas nas margens do reservatório da UHSM, em densas populações, cerca de cinco anos após o barramento do rio Tocantins (Figuras 12 e 13). A distribuição de *M. tuberculatus* no Brasil e sua relação com a malacofauna

nativa foram objeto de estudo de nosso grupo (Fernandez, Thiengo & Simone, 2003) e, no caso específico da área de influência da UHSM, um estudo quantitativo vem sendo realizado a fim de se verificar a possibilidade de esse molusco atuar como competidor de *B. straminea* encontrada no mesmo biótopo. Estudos realizados principalmente no Caribe demonstraram que *M. tuberculatus* pode competir com *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) e *B. straminea*, deslocando ou mesmo extinguindo populações dessas espécies, em determinadas situações (Pointier, 1993; Guimarães, Souza & Soares, 2001).

Figuras 10 e 11 – *Biomphalaria straminea* encontrada no reservatório da UHSM, Goiás. Escala = 5 mm

Figuras 12 e 13 – *Melanoides tuberculatus* no reservatório da UHSM, Goiás

Outra espécie asiática encontrada foi o bivalve *C. fluminea*, achado em remansos do rio Tocantins, em densas populações (Figuras 14 e 15). Este molusco foi registrado pela primeira vez no Brasil na bacia dos rios Guaíba e Jacuí (RS), onde foi introduzida provavelmente na década de 70 (Veitenheimer-Mendes, 1981). As conseqüências de sua invasão na América do Sul foram recentemente documentadas (Mansur et al.,

Figuras 14 e 15 – *Corbicula fluminea* no rio Tocantins. Escala = 1 cm

2004) e, considerando-se o aspecto econômico, deve-se ressaltar que colônias dessa espécie são capazes de obstruir tubos de trocas de calor das turbinas de usinas hidrelétricas e tubulações de estações para fornecimento de água e de tratamento de esgoto, causando enormes prejuízos.

Populações de *M. tuberculatus* e de *C. fluminea* foram também encontradas, tanto no APM Manso quanto no AHE Peixe Angical, durante o levantamento da malacofauna límnica.

A capacitação de profissionais da área da saúde dos municípios do entorno da UHSM foi também realizada, em concordância com as recomendações da Organização Mundial da Saúde (Rozendaal, 1997) e da Fundação Nacional de Saúde (Funasa, 1998), as quais incluem tanto o monitoramento das populações dos moluscos transmissores da esquistossomose quanto a busca ativa e o diagnóstico de casos de esquistossomose na população local, particularmente em escolares de sete a 14 anos, como ações efetivas para prevenir a instalação de focos daquela parasitose. Dessa forma, foram ministrados três cursos por nossa equipe, em colaboração com pesquisadores do Departamento de Biologia do Instituto Oswaldo Cruz e do Departamento de Parasitologia do Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz, por meio de parcerias estabelecidas entre a Fiocruz, Furnas Centrais Elétricas, secretaria estadual de Saúde de Goiás, secretarias de saúde dos municípios envolvidos e do Consórcio Intermunicipal de Saúde de Serra da Mesa.

Esses cursos, essencialmente práticos, englobaram três módulos fundamentais para o diagnóstico e controle da esquistossomose: Educação em Saúde; Malacologia; e Diagnóstico e Tratamento de Esquistossomose e Geo-helmintoses. O primeiro curso foi realizado em Minaçu, em maio de 2000, para 15 técnicos da área da saúde (Figura 16), os quais realizaram atividades de campo e de laboratório (Figura 17). O segundo curso, realizado em Uruaçu em maio de 2003, capacitou 21 técnicos e dois estudantes, incluindo no primeiro módulo outros 16 profissionais, entre médicos e enfermeiras da região. O terceiro foi ministrado em Niquelândia no mês de maio de 2006, tendo capacitado 26 profissionais.

A atuação de profissionais treinados é extremamente importante no sentido de promover a prevenção de instalação de focos de esquistossomose, visto que a área em questão pode ser definida como vulnerável ao estabelecimento da transmissão da esquistossomose e como área indene com potencial de transmissão. Curso semelhante foi ministrado para profissionais da saúde em Palmas (TO), em 2006, através de parcerias estabelecidas entre a Fiocruz, secretaria estadual de Saúde de Tocantins e Enerpeixe S.A.

Figura 16 – Docentes e discentes do primeiro curso de Educação em Saúde, Malacologia e Diagnóstico e Tratamento de Esquistossomose e Geo-helmintoses, realizado em Minaçu, Goiás

Figura 17 – Aula prática durante o módulo de Malacologia Médica no curso de Educação em Saúde, Malacologia e Diagnóstico e Tratamento de Esquistossomose e Geo-helmintoses, realizado em Uruaçu, Goiás

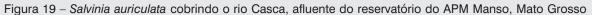
A suscetibilidade das populações de *B. straminea* encontradas na área de influência da UHSM foi verificada mediante realização de estudos experimentais com cepas de *S. mansoni* obtidas nos estados de Goiás, Pernambuco e Piauí (Fernandez & Thiengo, 2002). Os resultados apontaram a possibilidade de essa espécie vir a atuar como transmissora da esquistossomose na referida área. Sob o ponto de vista epidemiológico, deve-se ressaltar que *B. straminea* é considerada má hospedeira de *S. mansoni*, apesar de ser um excelente transmissor, capaz de manter altos índices de infecção na população humana, visto que é comum o encontro de uma taxa de infecção menor do que 0,5% nos moluscos, após o exame de amostras superiores a cinco mil exemplares provenientes de locais onde a taxa de infecção humana está em torno de 60%. Deve-se também considerar que a expansão da esquistossomose é um processo lento e contínuo, sendo os primeiros casos em novas localidades quase sempre descobertos casualmente em exames de fezes, estando nesse momento a infecção já radicada nas populações dos hospedeiros intermediários e definitivos, depois de ter realizado, durante um longo período, uma sucessão de ciclos entre o molusco e o homem, até atingir uma densidade detectável a exames aleatórios (Paraense, 1986).

O reservatório do APM Manso (S 14º53', W 55º48'), com um volume de água de 7,3 bilhões de m^3 e atingindo uma área de 427 km^2, se situa entre os municípios de Chapada dos Guimarães e Nova Brasilândia. Por se tratar de uma área com grande afluxo de turistas, o estudo qualitativo da malacofauna límnica realizado durante dois anos (2002 e 2003), nas fases de enchimento e pós-enchimento do reservatório, foi realizado em 23 municípios (Alto Paraguai, Barão de Melgaço, Barra do Bugres, Campo Verde, Cáceres, Chapada dos Guimarães, Cuiabá, Denise, Diamantino, Jaciara, Jangada, Nobres, Nossa Senhora do Livramento, Nova Brasilândia, Pedra Preta, Poconé, Poxoréu, Primavera do Leste, Rondonópolis, Rosário d'Oeste, Santo Antônio do Leverger, São Pedro da Cipa e Várzea Grande), incluindo o Parque Nacional da Chapada dos Guimarães e o Pantanal Mato-grossense.

Dentre as espécies de interesse médico, devem ser ressaltadas as presenças de *B. straminea* e *B. amazonica*. A primeira possui populações bem estabelecidas nos municípios de Cuiabá, Diamantino e Poconé, enquanto *B. amazonica* foi encontrada principalmente no reservatório. O monitoramento da área do reservatório do APM Manso, visando à detecção da instalação de *B. straminea*, é necessário devido à sua grande capacidade de adaptação aos diferentes climas e condições ecológicas no país (Paraense, 1986).

Quanto a *B. amazonica*, hospedeira potencial de *S. mansoni* (Corrêa & Paraense, 1971), o encontro de exemplares restringiu-se a folhas e raízes de plantas aquáticas como *Pistia stratiotes* L. e *Salvinia auriculata* Aubl. (Figuras 18 e 19). Este fato reforça a importância das macrófitas na disseminação dos moluscos, uma vez que, além de servirem como abrigo e transporte, criam ambientes propícios ao estabelecimento de futuras colônias. O ritmo de colonização por macrófitas aquáticas depende das características morfométricas de cada reservatório, bem como de fatores físicos e químicos associados à coluna de água e ao sedimento (Thomaz & Bini, 1999). Assim, no caso específico do APM Manso, análises futuras quanto ao estabelecimento das populações de *B. amazonica* no reservatório se fazem necessárias. Com relação ao potencial de instalação de focos de esquistossomose na área, colônias de *B. amazonica* foram mantidas no Laboratório de Malacologia do Instituto Oswaldo Cruz e seus descendentes foram expostos a três cepas de *S. mansoni*, resultando em índices de infecção entre 0% e 33%. Esse resultado corrobora estudos anteriores realizados com essa espécie, embora a possibilidade de sua atuação como hospedeira potencial na área do APM Manso seja remota (Fernandez & Thiengo, 2006).

Figura 18 – *Pistia stratiotes* no rio Manso, afluente do reservatório do APM Manso, Mato Grosso

Figura 19 – *Salvinia auriculata* cobrindo o rio Casca, afluente do reservatório do APM Manso, Mato Grosso

A velocidade de enchimento de um reservatório está diretamente relacionada à sua dimensão e à quantidade de água fornecida pelos seus afluentes. No rio Quilombo, por exemplo, a montante da barragem do APM Manso, foi possível documentar a inundação de uma área de garimpo, no assentamento Campestre (Figuras 20 e 21), num curto espaço de tempo. A presença de acampamentos de garimpeiros na região é

outro fator a ser considerado sob o ponto de vista epidemiológico, já que alguns são provenientes de áreas endêmicas de esquistossomose e geralmente se estabelecem sob condições precárias às margens dos corpos d'água. Em conseqüência das alterações promovidas pelo remanejamento da população, durante a fase de construção das usinas hidrelétricas, várias áreas de garimpo foram extintas, fato observado nos rios Quilombo (MT) e Maranhão (GO).

Figura 20 – Rio Quilombo, afluente do reservatório do APM Manso, março de 2002

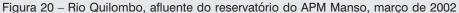



Figura 21 – Rio Quilombo, afluente do reservatório do APM Manso, outubro de 2002

No Pantanal Mato-grossense a fauna se renova a cada ciclo hidrológico, o das cheias, entre novembro e abril, e o da seca, no restante do ano; as áreas inundadas na enorme planície alagada funcionam como viveiros para uma grande diversidade de fauna como peixes, aves, mamíferos, insetos e moluscos, entre outros. O grande volume de água dificulta o encontro de moluscos límnicos, uma vez que muitos

ou são carreados para os rios e córregos ou encontram-se mais dispersos no ambiente (Figuras 22 e 23). O estudo da malacofauna límnica naquela área, por ter sido realizado periodicamente, possibilitou o registro de alguns aspectos biológicos, como a cópula e a postura de *M. planogyra* (Figuras 24 e 25), espécie potencialmente capaz de atuar no controle biológico dos transmissores da esquistossomose. Tanto a cópula quanto a desova rósea e gelatinosa dessa espécie, posta sob a vegetação aquática, foram registradas pela primeira vez.

Figuras 22 e 23 – Enseada em Santo Antônio do Leverger, Mato Grosso. Esquerda: maio de 2002; direita: dezembro de 2002

Figura 24 – *Marisa planogyra* em cópula

Figura 25 – Exemplar de *Marisa planogyra* e uma desova em macrófitas

Os estudos sobre a malacofauna límnica presente na área de influência do AHE Peixe Angical (S 12°14', W 48°21') abrangerão todas as fases da construção da barragem, período compreendido entre as obras para desviar o rio Tocantins no eixo da barragem até o início da operação das turbinas, bem como nos dois anos pós-enchimento. O reservatório, situado ao sul do estado de Tocantins, possui uma área de 294 km^2 com capacidade para 2,7 milhões de m^3 de água represada, entre os municípios de Palmeirópolis, Paranã, Peixe e São Salvador do Tocantins. O estudo qualitativo da malacofauna se realiza desde fevereiro de 2004 e até o presente revelou a ocorrência de nove famílias. A fauna é bem semelhante àquela encontrada na área da UHSM, pela proximidade e por estar na mesma bacia hidrográfica. Sob o ponto de vista epidemiológico, merece destaque a ocorrência de populações de *B. straminea* no rio Tocantins, tanto a jusante quanto a montante da barragem. O estudo qualitativo, iniciado em junho de 2005, tem demonstrado alterações na diversidade e equitabilidade das espécies.

Nas áreas de influência dessas três usinas hidrelétricas, a implementação de medidas profiláticas visando ao impedimento da instalação de parasitoses veiculadas pela água se faz necessária, não só pela presença de *B. straminea*, como também de *L. columella*, uma das espécies transmissoras da fasciolose no Brasil. Como a pecuária constitui uma das principais atividades econômicas no Centro-Oeste, a verificação de estádios evolutivos de *F. hepatica* nos moluscos, bem como a avaliação de infecção dos rebanhos bovinos pelos proprietários é recomendável, uma vez que o gado pode ser encontrado freqüentemente às margens dos reservatórios, em ambientes onde ocorre *L. columella* (Figuras 26 e 27).

Esses estudos e atividades desenvolvidas em áreas impactadas, envolvendo o levantamento malacológico, o monitoramento das espécies de importância médica, bem como a capacitação de recursos humanos locais, como meios de prevenir a instalação de focos de esquistossomose são efetivamente relevantes e pioneiros no país. Além disso, atendem à crescente preocupação com o binômio saúde humana/qualidade

ambiental, notadamente por parte dos órgãos ambientais, os quais incluem nas análises de impacto ambiental e obtenção dos licenciamentos pertinentes, o monitoramento de espécies transmissoras de parasitoses na área sob influência de empreendimentos que venham a causar danos ambientais.

Figura 26 – Margem do reservatório da UHSM, Goiás

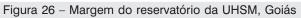



Figura 27 – Coleta de moluscos no reservatório da UHSM, Goiás

PERSPECTIVAS

Nos últimos anos tem-se vivenciado uma notável e relevante preocupação com a qualidade ambiental, tanto por parte da população, quanto pelo poder público. Portanto, como são praticamente inexistentes estudos longitudinais envolvendo aspectos biológicos e epidemiológicos da malacofauna límnica em áreas impactadas por grandes transformações ambientais, a equipe do Laboratório de Malacologia do Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz pretende dar continuidade aos estudos que têm sido desenvolvidos nessas áreas, de forma que os resultados e a experiência adquiridos possam ser aplicados em outras áreas igualmente impactadas.

REFERÊNCIAS

BOAVENTURA, M. F.; THIENGO, S. C. & FERNANDEZ, M. A. Gastrópodes Límnicos: hospedeiros intermediários de trematódeos digenéticos no Brasil. In: SANTOS, S. B. et al. (Orgs.) Tópicos em Malacologia. Ecos do XVII Encontro Brasileiro de Malacologia, 2007.

CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE (CONAMA). Resolução Conama n. 001/86 de 23 de setembro de 1986. Estabelece as definições, as responsabilidades, os critérios básicos e as diretrizes gerais para uso e implementação da Avaliação de Impacto Ambiental como um dos instrumentos da Política Nacional do Meio Ambiente. In: CETESB. *Legislação Federal, Controle da Poluição Ambiental*. São Paulo: Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 1995.

CORRÊA, L. R. & PARAENSE, W. L. Susceptibility of *Biomphalaria amazonica* to infection with two strains of *Schistosoma mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 13: 387-390, 1971.

COWIE, R. H.; HAYES, K. & THIENGO, S. C. What are apple snails? Confused taxonomy and some preliminary resolution. In: JOSHI, R. C. & SEBASTIAN, L. S. *Global Advances in Ecology and Management of Golden Apple Snails.* Filipinas: Philippine Rice Research Institute, 2006.

DE FELIPPO, R. et al. As alterações na qualidade da água durante o enchimento do reservatório da UHE Serra da Mesa – GO. In: HENRY, R. *Ecologia de Reservatórios: estrutura, função e aspectos sociais.* Botucatu: Fundibio, Fapesp, 1999.

FERNANDEZ, M. A. & THIENGO, S. C. Susceptibility of *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) from Serra da Mesa Dam, Goiás, Brazil to infection with three strains of *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97: 59-60, 2002.

FERNANDEZ, M. A. & THIENGO, S. C. Susceptibility of *Biomphalaria amazonica* and *Biomphalaria occidentalis* from Manso dam, MT, Brazil, to infection with three strains of *Schistosoma mansoni*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101, supl.1: 235-237, 2006.

FERNANDEZ, M. A.; THIENGO, S. C. & AMARAL, R. S. Técnicas malacológicas. In: AMARAL, R. S., THIENGO, S. C. & AMARAL, R. S. (Orgs.) *Vigilância e Controle de Moluscos de Impotância Epidemiológica: diretrizes técnicas*. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

FERNANDEZ, M. A.; THIENGO, S. C. & SIMONE, L. R. Dispersal of the introduced freshwater snail *Melanoides tuberculatus* (Mollusca: Thiaridae) in Brazil. *The Nautilus*, 117: 78-82, 2003.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). *Controle da Esquistossomose: diretrizes técnicas.* 2. ed. Brasília: Funasa, 1998.

GUIMARÃES, C. T.; SOUZA, C. P. & SOARES, D. M. Possible competitive displacement of planorbids by *Melanoides tuberculata* in Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96, supl.: 173-176, 2001.

LEME, A. A. A reestruturação do setor elétrico brasileiro: privatização e crise em perspectiva. In*:* FELICIDADE, N.; MARTINS, R. C. & LEME, A. A. (Orgs.) *Uso e Gestão dos Recursos Hídricos no Brasil*. São Carlos: Rima, 2004.

MANSUR, M. C. et al. Uma retrospectiva e mapeamento da invasão de espécies de *Corbicula* (Mollusca, Bivalvia, Veneroida, Corbiculidae) oriundas do Sudeste Asiático. In: SILVA, J. S. V. & SOUZA, R. C. C. (Orgs.) *Água de Lastro e Bioinvasão*. Rio de Janeiro: Interciência, 2004.

MÜLLER, A. C. *Hidrelétricas, Meio Ambiente e Desenvolvimento*. São Paulo: Makron Books, 1995.

OLIVIER, L. & SCHNEIDERMAN, M. A method for estimating the density of aquatic snail populations. *Experimental Parasitology*, 5: 109-117, 1956.

PARAENSE, W. L. Distribuição dos caramujos no Brasil. *Anais da Academia Mineira de Medicina*, supl. 1983 – 1984: 117-128, 1986.

PESO, J. & QUINTANA, M. Outro molusco de origen aciático introducido em la cuenca del Plata: *Melanoides tuberculata* em el embalse de Yacyretá, Argentina/Paraguai (Prosobranchia:Thiaridae). In: CONGRESO LATINOAMERICANO DE MALACOLOGIA (CLAMA), IV, Chile, 1999. *Anais...* Chile, 1999.

POINTIER, J. P. The introduction of *Melanoides tuberculata* (Mollusca: Thiaridae) to the island of Saint Lucia (West Indies) and its role in the decline of *Biomphalaria glabrata*, the snail intermediate hosts of *Schistosoma mansoni*. *Acta Tropica*, 54: 13-18, 1993.

ROSENBERG, D. M.; BODALY, R. A. & USHER, P. J. Environmental and social impacts of large scale hydroeletric developmen t: Who is listening? *Global Environment Change*, 5: 127-148, 1995.

ROZENDAAL, J. A. *Vector Control. Methods for use by individuals and communities*. England: World Health Organization, 1997.

SCHELL, S. *How to Know the Trematodes*. Dubuque: WMC Brown Co. Publishers, 1970.

SEDDON, M. Molluscan biodiversity and the impact of large dams. Disponível em: <www.dams.org>.

SOUTHGATE, V. R. Schistosomiasis in the Senegal river basin: before and after the construction of the dams at Diama, Senegal and Manantali, Mali and future prospects. *Journal of Helminthology*, 71: 125-132, 1997.

THIENGO, S. C. Helmintoses de interesse médico-veterinário transmitidas por moluscos no Brasil. In: SANTOS, S. B., PIMENTA, A. D., THIENGO, S. C., FERNANDEZ, M. A. & ABSALÃO, R. S. (Orgs.) *Tópicos em Malacologia: ecos do XVIII EBRAM*. Rio de Janeiro: Corbã, Sociedado Brasileira de Malacologia, 2007.

THIENGO, S. C.; SANTOS, S. B. & FERNANDEZ, M. A. Malacofauna límnica da área de influência do lago da Usina Hidrelétrica de Serra da Mesa (UHSM), Goiás, Brasil: I – Estudo Qualitativo. *Revista Brasileira de Zoologia*, 22(4): 867-874, 2005.

THOMAZ, S. M. & BINI, L. M. A expansão das macrófitas aquáticas e implicações para o manejo de reservatórios: um estudo na represa de Itaipu. In: HENRY, R. (Org.) *Ecologia de Reservatórios: estrutura, função e aspectos sociais.* Botucatu: Fundibio, Fapesp, 1999.

TUNDISI, J. G.; TUNDISI, T. M. & ROCHA, O. Ecossistemas de águas interiores. In: REBOUÇAS, A. C. & BRAGA, B. (Orgs.) *Águas Doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação*. São Paulo: Escrituras, 2002.

VEITENHEIMER-MENDES, I. L. *Corbicula manilensis* (Philippi, 1844) molusco asiático, na bacia do Jacuí e do Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil (Bivalvia, Corbiculidae). *Iheringia, Série Zoologia*, 60: 63-74, 1981.

14 Implicações da Biologia de *Biomphalaria* no Controle da Esquistossomose

Horacio Manuel Santana Teles
Omar dos Santos Carvalho

Criadouro de *Biomphalaria* sp.

Os conhecimentos sobre a biologia de *Biomphalaria* são importantes porque este gênero, de moluscos de água doce, agrega espécies de caramujos responsáveis pela transmissão do *Schistosoma mansoni*. Nesse sentido, as pesquisas e investigações sobre os condicionantes do desenvolvimento de *Biomphalaria glabrata*, *Biomphalaria tenagophila* e *Biomphalaria straminea*, espécies naturalmente suscetíveis ao parasito, são particularmente relevantes. Já a disponibilidade de informações dos condicionantes do desenvolvimento e dos determinantes biológicos e ambientais que favorecem a instalação e permanência dessas espécies na natureza e das interações que possibilitam a formação dos focos da esquistossomose mansoni, considerando as distinções de cada realidade epidemiológica, é essencial na definição e planejamento das ações e atividades profiláticas mais adequadas ao controle da endemia. Logo, a proporção de conhecimentos disponíveis é diretamente proporcional à capacidade de resolução dos programas de controle e vigilância epidemiológica da doença e, mesmo admitindo-se a disponibilidade de um conjunto de informações sobre detalhes que influenciam as densidades das populações dos hospedeiros, a transmissão de *S. mansoni* sempre apresentará distinções locais e regionais. Esse é um reflexo da influência de relações intra e interespecíficas, ou seja, da multiplicidade de determinantes biológicos da sobrevivência de *Biomphalaria* e do relacionamento do parasito com os hospedeiros. Diante dessa variedade de respostas e comportamentos é previsível a dificuldade do controle isolado dos hospedeiros intermediários da endemia, como é certo o insucesso das ações e tentativas de controle eficiente da transmissão quando o alvo é apenas uma etapa do ciclo biológico do parasito. A capacidade de sobrevivência de *Biomphalaria* sob diversas situações ambientais e a adaptação evolutiva ao *S. mansoni* certamente espelham os níveis de transmissão ambiental, a morbidade e a prevalência das áreas endêmicas. Portanto, a prática da formulação de programas centralizados, dotados de regras e orientações rígidas, em princípio contraria postulados elementares da biologia e da epidemiologia e, ainda que se disponha de recursos financeiros para a execução integral de todas as medidas profiláticas disponíveis, o controle duradouro da esquistossomose também exigiria uma mobilização de pessoal inviável na conjuntura do sistema de saúde brasileiro. Na atualidade, talvez seja mais interessante a concentração de esforços e o desenvolvimento de atividades que promovam a redução dos espaços, dos refúgios e das fontes alimentares dos caramujos que atuam como hospedeiros intermediários de *S. mansoni* e a mudança dos modelos, dos procedimentos e das práticas hoje adotadas na ocupação e exploração do solo.

CRIADOUROS E COLETA DE CARAMUJOS

Generalidades

As espécies dos caramujos pulmonados do gênero *Biomphalaria*, da família Planorbidae, são comuns a ambientes hídricos de água doce naturais, artificiais e temporários, do tipo lêntico ou lótico, do nível do mar ou de grandes altitudes. Apesar da presença em ambientes hídricos de todos os tipos, tamanhos e profundidades, os planorbídeos são mais facilmente observados junto às margens de coleções hídricas de pequeno porte.

Na Região Neotropical, as espécies de *Biomphalaria* colonizam coleções hídricas naturais, artificiais e temporárias de praticamente todos os domínios geográficos. Os planorbídeos habitam o planeta desde o Jurássico, dispersos por territórios situados entre as latitudes 70ºN e 40ºS. Dessa maneira, a altitude não parece um detalhe muito relevante na distribuição e sobrevivência de várias espécies desse gênero dos moluscos, uma vez que registros de ocorrência vão de sítios localizados no nível do mar até ambientes situados a três mil metros, nas montanhas rochosas, ou no Lago Titicaca, a 4.280 metros de altitude. Essas ocorrências mostram a excepcional tolerância às variações da temperatura decorrentes das oscilações climáticas e às mudanças das características biológicas e da qualidade físico-química das águas. Paralelamente, a proliferação das espécies de *Biomphalaria*, em ambientes que abrigam uma fauna associada muito diversificada, demonstra que as espécies do gênero superam bem os impactos da ação dos predadores, competidores e outros componentes abióticos que exercem pressões desfavoráveis para a ocupação e permanência nos ambientes hídricos. A amplitude da distribuição geográfica da maior parte das espécies de *Biomphalaria* é típica das espécies euritópicas, ou seja, das dotadas de boa plasticidade biológica. Para a resistência às adversidades, as bionfalárias apresentam um repertório de adaptações e habilidades que possibilitam, por exemplo, a superação do dessecamento temporário das coleções hídricas. Em isolamento e submetidos a amplas variações da temperatura da água, muitos exemplares resistem vários dias sem alimentação. Embora possuam uma capacidade de dispersão ativa limitada pela lentidão dos movimentos que executam sob diversos tipos de substrato, na natureza compensam a restrição com deslocamentos por grandes espaços em flutuação, ou através do transporte passivo das desovas e de indivíduos aderidos aos mais diferentes objetos flutuantes, como as folhas, galhos, pedaços de madeira, plásticos e outros detritos. Na Figura 1 pode-se observar situações que favorecem a proliferação e a dispersão das espécies de *Biomphalaria*.

Em comparação com outras espécies animais, a razoável disponibilidade de informações sobre muitos aspectos da biologia e ecologia dessa categoria dos caramujos certamente se deve ao envolvimento de *Biomphalaria glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea* na transmissão do *S. mansoni*, o agente etiológico da esquistossomose mansoni, uma doença ainda bastante comum no território nacional. A maioria dos focos e dos casos da doença concentra-se nas regiões nordeste e sudeste. Nas regiões norte e sul, a esquistossomose é transmitida em áreas endêmicas menores ou de focos isolados.

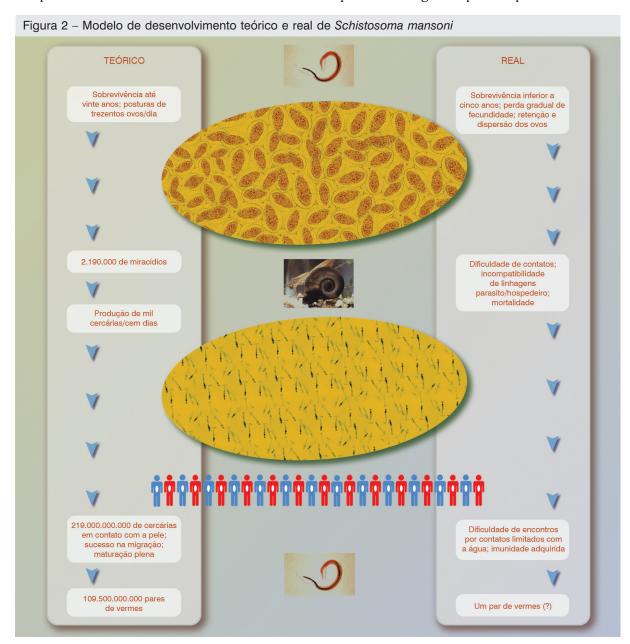
Embora o assunto seja controverso, as estimativas mais recentes sugerem a existência de 2,5 a 6 milhões de casos da esquistossomose no Brasil, com mais de 25 milhões de pessoas vivendo em uma área de um milhão de km^2 sob risco permanente de aquisição do parasito (WHO, 2000; Katz & Almeida, 2003). Com poucas exceções, a endemia incide em regiões e localidades com deficiências crônicas no

saneamento básico. O segmento populacional mais afetado quase sempre é de baixa condição socioeconômica, que obriga à vida insalubre e a sucessivas aquisições do verme. São as quantidades de vermes adquiridos ao longo da vida que favorecem o desenvolvimento das formas graves da doença. Dada a grande extensão das áreas colonizadas pelas espécies naturalmente suscetíveis e a regularidade das deficiências do saneamento básico em território brasileiro, os riscos da disseminação e formação de novas áreas endêmicas é constante. Além do Brasil, a esquistossomose é uma doença que incide em mais de cinqüenta países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, como mostra o último relatório da situação mundial (Doumenge et al., 1987).

Figura 1 – Criadouros de *Biomphalaria*

Juntamente com as dimensões das áreas colonizadas por *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea* e as deficiências do saneamento básico, a circulação de portadores humanos do parasito promove o risco da formação dos focos em grande parte do território nacional. Como as pessoas migram regularmente em busca de melhores condições de vida, presume-se que somente as áreas do cerrado, de encostas de serras e de parte da planície amazônica permaneçam livres de focos de *S. mansoni*, pela inexistência de criadouros das espécies dos caramujos transmissores na atualidade. Portanto, a realidade do país é que a esquistossomose continue um importante problema de saúde pública.

Outro fato relacionado aos riscos da aquisição da esquistossomose durante os contatos da população com os ambientes hídricos é a reprodução assexuada do parasito durante a etapa do desenvolvimento intramolusco. A capacidade de multiplicação das formas infectantes, as cercárias, a partir da infecção dos caramujos por um único miracídio, além da perpetuação de *S. mansoni* nos hospedeiros definitivos, com a expectativa do crescimento do número de parasitos, garante a atividade permanente dos focos, mesmo que o controle implique na redução das prevalências. O modelo apresentado na Figura 2 apresenta a excepcional capacidade de produção de cercárias que, juntamente com as deficiências do abastecimento e da distribuição de água potável, é responsável pela aquisição de muitos vermes durante os contatos das pessoas com os ambientes hídricos em busca do suprimento de água ou pelo simples lazer.

Figura 2 – Modelo de desenvolvimento teórico e real de *Schistosoma mansoni*

Entretanto, o sucesso da disseminação dos parasitos que evoluíram em ciclos complexos, com o envolvimento de diferentes hospedeiros, a exemplo de *S. mansoni*, é dependente da disponibilidade e da adaptação dos hospedeiros intermediários para a superação das adversidades em diferentes contextos ecológicos. Essa dependência se acentua porque as etapas de desenvolvimento e a maturação no corpo dos hospedeiros acontecem em ambiente razoavelmente protegido e equilibrado, onde os encontros para a reprodução são fáceis.

Detalhes da biologia e da ecologia de *Biomphalaria*

No que diz respeito ao potencial biológico, apesar da singeleza dos aparelhos responsáveis pela digestão, respiração, excreção, circulação e reprodução, fato é que a realização das atividades vitais pelas espécies do gênero é muito eficiente, o que garante a sobrevivência e proliferação sob diversos panoramas ambientais, condições climáticas ou ecológicas. A excepcional funcionabilidade dos sistemas biológicos para a superação das adversidades ambientais, certamente assegura a colonização de biótopos distribuídos por grandes amplitudes geográficas e a manutenção de elevadas densidades populacionais pela maioria das espécies de *Biomphalaria*. Não existem indicações de que as densidades populacionais das bionfalárias diminuam na presença de ectoparasitos ou de parasitos que possuem fases de desenvolvimento intramolusco, provavelmente porque a preservação do funcionamento pleno ou parcial dos sistemas vitais das bionfalárias durante as infecções garante a sobrevivência dos indivíduos infectados. Em princípio, considerando o parasitismo um relacionamento que viabiliza a seleção natural de linhagens mais ajustadas dos hospedeiros intermediários e definitivos, a co-evolução ou evolução concomitante de *Schistosoma* e *Biomphalaria* é um fenômeno que favorece a sucessão de gerações suscetíveis dos caramujos nos focos da esquistossomose e o aprimoramento permanente das interações parasito/hospedeiro.

Outro destaque da relação *Schistosoma/Biomphalaria* é a conveniência da reprodução assexuada como mecanismo compensatório das perdas ambientais sofridas pelo trematódeo na fase de miracídio. No esquema proposto na Figura 2 é patente a restauração das probabilidades de contato das cercárias com os hospedeiros definitivos. Juntamente com a produção de um grande número de ovos, a sobrevivência por longos períodos de tempo ou a competência para a superação das barreiras imunológicas, a incorporação da reprodução assexuada no ciclo biológico é outro resultado da evolução concomitante de *S. mansoni* com as espécies naturalmente suscetíveis de *Biomphalaria*.

De maneira generalizada, a maior parte dos conhecimentos sobre determinados detalhes da biologia e da ecologia dos planorbídeos advém do acompanhamento de situações isoladas ou de experimentos laboratoriais. Como a simulação das condições naturais é praticamente impossível em laboratório, resultam enormes dificuldades de criação e manutenção de colônias de caramujos por longos períodos sem perda de vitalidade e das características genotípicas originais. De qualquer maneira, em princípio, os experimentos de laboratório permitem estimativas da influência isolada ou combinada de alguns condicionantes bióticos e abióticos nas populações das espécies do gênero. Embora os experimentos não reproduzam a tessitura integral dos ambientes hídricos, os estudos destinados à descoberta dos parâmetros, efeitos e impactos das relações inter e intra-específicas na sazonalidade das populações dos caramujos, embora subjetivos, são importantes para a delimitação de parâmetros que de alguma forma afetam a sobrevivência das espécies do gênero.

Ainda que a subjetividade dos conhecimentos sobre o potencial biológico das espécies seja incontestável, pela dificuldade da reprodução de situações que simulem os ambientes nativos e minimizem a perda gradual da variabilidade genética em colônias de laboratório pela privação do intercâmbio gênico, a análise menos holística mostra a influência de certos elementos na dinâmica populacional de *Biomphalaria*. A dificuldade da reprodução dos componentes biológicos e ambientais em laboratório também prejudica o dimensionamento dos impactos de determinadas interações biológicas no desenvolvimento dos caramujos, a exemplo da competição, da predação ou parasitismo. Assim, a complexidade das relações e a dependência de elementos essenciais variados consistem nas principais dificuldades para a obtenção de conhecimentos precisos sobre os condicionantes da sobrevivência dos caramujos, tanto na natureza, como no laboratório.

Da genética, embora a variabilidade interespecífica seja um fenômeno mais freqüente entre espécies de ampla distribuição geográfica, sabe-se que as populações de *Biomphalaria* originárias de diferentes localizações geográficas apresentam baixa variabilidade genética. Como a resistência é dominante e a suscetibilidade recessiva e a determinação desses caracteres é de origem poligênica, em princípio a tendência à estabilidade genética é um ponto que favorece a transmissão e disseminação de *S. mansoni*, depois da adaptação e deslocamento do perfil genético em favor da suscetibilidade. Nesse ponto merece destaque que a determinação de diferentes níveis de suscetibilidade por herança poligênica é uma condição favorável à manutenção dos focos, uma vez que o retorno aos níveis iniciais de resistência é gradual e, portanto, dependente da eliminação das infecções humanas ou da contaminação ambiental por fezes com ovos do helminto.

A possibilidade de obtenção de oxigênio dissolvido na água e no ar é uma estratégia relevante para a sobrevivência dos caramujos. Embora sejam dotados de uma estrutura designada pseudobrânquia que possibilita a obtenção de oxigênio dissolvido na água, preferencialmente realizam as trocas gasosas na superfície das coleções hídricas através de uma estrutura chamada pneumostomo. A disponibilidade dessas estruturas e a respiração pulmonar permitem a sobrevivência em ambientes pobres em oxigênio ou poluídos por matéria orgânica. De outro lado, a possibilidade da permanência em imersão por longos períodos é outra estratégia que confere maior proteção contra o ataque de predadores ou de mudanças indesejáveis nos ambientes hídricos. Sem dúvida, a disponibilidade da alternativa da respiração aérea e em imersão é um comportamento que amplia o leque de oportunidade de sobrevivência de *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea*, e de outras espécies de pulmonados aquáticos, como *Physa marmorata* e *Lymnaea columella*, em ambientes hídricos naturais ou modificados de áreas urbanas ou agrícolas. Ao contrário do que se verifica com peixes, por exemplo, a eficiência da respiração dos caramujos pulmonados em áreas degradadas é uma garantia da preservação dos sítios de colonização e dos níveis de ocupação territorial.

Como outros gêneros de moluscos pulmonados aquáticos e terrestres, as bionfalárias são hermafroditas e possuem uma reprodução muito eficiente. Embora detenham a capacidade da reprodução por autofecundação, a fecundação cruzada é preferencial entre as espécies dessa categoria taxonômica (Paraense & Correa, 1988). O sistema genital é formado por uma parte comum, responsável pela produção dos gametas masculinos e femininos, e outra composta por órgãos de cópula, transferência e armazenamento dos gametas. Dado o rápido amadurecimento sexual e a possibilidade do armazenamento de espermatozóides, as espécies de *Biomphalaria* se reproduzem praticamente durante todo o período de vida.

A autofecundação facilita a reposição das populações após a passagem dos momentos tormentosos, responsáveis pelo crescimento da taxa de mortalidade, e favorece a ampliação das áreas colonizadas, quando da dispersão de um ou poucos exemplares. Se de um lado a autofecundação implica no aparecimento de colônias de baixa variabilidade genética devido ao efeito fundador, de outro coadjuva para a preservação das taxas de crescimento populacional com a produção permanente de novos indivíduos. A capacidade de autofecundação também permite a restauração das densidades das populações locais ao fim dos períodos em que prevalecem restrições ao desenvolvimento das espécies.

Em que pese a perda da capacidade reprodutiva em laboratório, devido ao isolamento das colônias, os experimentos realizados com algumas espécies de *Biomphalaria* evidenciam uma excepcional competência reprodutiva (Rey, 1956; Kawazoe, 1976, 1977; Genaro, 1978; Souza & Lima, 1990; Elmor, Vaz & Gonçalves, 1992). Embora se observe a perda gradual da fertilidade em condições experimentais, a produção ininterrupta de desovas com embriões viáveis por períodos superiores há um ano, o rápido desenvolvimento embrionário, não superior a oito dias, a realização de posturas com dez, cinqüenta e mais embriões, com sobrevivência superior a 80%, demonstram a excepcional capacidade reprodutiva de certas espécies, como acontece em *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea*. Outro aspecto da notável capacidade reprodutiva de *Biomphalaria* é a realização de acasalamentos um mês após eclosão com produção de prole. Os testes de laboratório também demonstram a possibilidade de sobrevivência em isolamento por períodos superiores há um ano. Além do vigor reprodutivo, a baixa restrição quanto ao tipo de substratos para a deposição de desovas é outro detalhe que caracteriza a destreza para a ocupação eficiente de diversos biótopos. Não raro, observa-se a realização de posturas nas conchas dos caramujos.

A rapidez do desenvolvimento permitida pelas elevadas taxas de fecundidade e fertilidade, mais a capacidade da reprodução em indivíduos muito jovens, com geração de indivíduos férteis, são importantes para a preservação das espécies de bionfalárias nos ambientes hídricos, apesar da concorrência de predadores, parasitos e de outros limitantes ao crescimento populacional das espécies. Em *Biomphalaria*, a produção de um grande número de indivíduos, independentemente dos níveis de aptidão para a sobrevivência individual, parece uma alternativa importante para a manutenção da pujança das espécies do gênero, mesmo considerando que os indivíduos menos aptos sejam eliminados com maior brevidade. Apesar da constatação experimental da existência de variações, independentemente da falta de uniformidade dos procedimentos de manutenção em laboratório, do tempo de duração dos experimentos e da perda de vitalidade causada pelo isolamento reprodutivo das colônias, fato é que as observações disponíveis indicam que o potencial reprodutivo é excepcional, pelo menos entre as espécies dos caramujos transmissores de *S. mansoni*.

O sistema nervoso, apesar da simplicidade, garante respostas rápidas aos estímulos mecânicos e provoca a retração das partes moles do animal para o interior das conchas. A retração também acontece em condições ambientais adversas, por exemplo, com mudanças bruscas da temperatura da água ou no contato com produtos químicos. Com a agitação da água, muitos indivíduos caem diretamente para o fundo, permanecendo imóveis por pequenos períodos ou retomando a locomoção imediatamente. Após a imersão, parte dos exemplares sobe diretamente para a superfície, onde permanecem flutuando por algum tempo. O repertório de respostas aos estímulos, embora reduzido, é eficiente. Quando sujeitos aos estímulos mecânicos ou químicos, uma parte dos exemplares aderidos aos substratos permanece retraída por períodos variáveis de tempo, possivelmente para a redução da superfície das partes moles em exposição. Os substratos para o deslocamento e realização de posturas são talos, folhas, rochas, lodo, pedaços de madeira e outros objetos e detritos, alguns registrados nas Figuras 1 e 3.

Os sistemas responsáveis pela excreção e circulação são muito simples. A drenagem dos líquidos acontece diretamente na cavidade pericárdica por um órgão único de aspecto tubular. O coração possui uma aurícula e um ventrículo que impulsionam a hemolinfa por um circuito aberto de veias e artérias.

O sistema digestivo é completo com boca e ânus. O estômago e o intestino são bem desenvolvidos. O sistema é complementado por uma glândula digestiva ou hepatopâncreas. A obtenção dos alimentos de origem animal ou vegetal em decomposição se dá por raspagem com a rádula, uma estrutura provida de dentes em linhas transversais e longitudinais. A captação de alimentos acontece durante os deslocamentos do animal. Em laboratório, parte dos exemplares adere às folhagens servidas como alimento, para raspagem com a rádula.

Condicionantes da dinâmica das populações

Como acontece na maioria das espécies, as densidades das populações dos caramujos flutuam de maneira sazonal ou irregularmente, por influência de um conjunto de diversos fatores bióticos e abióticos. Possivelmente as variações das densidades populacionais decorram do potencial biológico próprio de cada espécie no que tange à capacidade reprodutiva, de defesa contra predadores e parasitos e da maior ou menor aptidão para a busca e captação de recursos essenciais e resistência às mudanças estacionais da temperatura, dos níveis e da qualidade das águas de cada ecossistema.

Por serem animais pecilotermos, é previsível que diversos fatores limitantes geológicos (ou edáficos) e climáticos exerçam uma razoável influência nas densidades populacionais, conquanto as barreiras edáficas interfiram menos na dinâmica populacional de *Biomphalaria* que as flutuações das precipitações pluviométricas e as temperaturas. Embora os estudos sobre o assunto não sejam conclusivos, as variações estacionais associadas ao clima promovem apreciáveis flutuações da densidade das populações. Apesar da flexibilidade para a sobrevivência sob amplos limites de pH, turbidez e dureza das águas, e sob diferentes fluxos hídricos e oscilações pluviométricas, as mudanças verificadas ao longo das estações favorecem ou inibem a atividade reprodutiva das espécies, tanto por razões estritamente biológicas, como ambientais. Durante os períodos chuvosos crescem as possibilidades de dispersão por carreamento. Em inundações geralmente acontece a ampliação das áreas colonizadas. Nos períodos menos chuvosos, o maior problema é a resistência ao dessecamento. De qualquer maneira, em condições naturais, a ação dos condicionantes e determinantes da dinâmica populacional não é dependente de um detalhe isolado, mas sim pela ação combinada de todos os componentes, favoráveis ou não. Nesse sentido, as interpretações dos níveis de interferência de cada limitante ou condicionante abiótico ou biótico, se analisados separadamente, possuem valor apenas preditivo. A ocorrência das espécies de *Biomphalaria* em criadouros distribuídos por paisagens tão distintas e sujeitos a extremas variações de temperatura, demonstra que os limites de tolerância da maioria das espécies, ou de uma mesma espécie de *Biomphalaria*, são suficientemente amplos à sobrevivência em condições que são extremas para um grande número de outras espécies de animais.

B. straminea constitui um excelente exemplo da boa capacidade adaptativa a climas e temperaturas diversificados. Esta espécie ocorre em ambientes hídricos de áreas tórridas do nordeste brasileiro a regiões de clima temperado, com muita freqüência e abundância em criadouros perenes ou temporários, naturais ou artificiais. No caso da capacidade de sobrevivência da espécie em ambientes sujeitos à dessecação,

supõe-se que o pequeno tamanho da maioria dos exemplares encontrados na natureza, por redução da superfície de evaporação, explique a dominância da espécie em regiões de clima muito quente e em coleções hídricas que permanecem secas nos períodos de estiagem. A capacidade de resistência às amplas variações de temperatura também se observa em *B. tenagophila* e *B. peregrina*. De uma maneira geral, a evolução e adaptação das espécies dos caramujos transmissores de *S. mansoni* aos ambientes hídricos se traduz na distribuição geográfica por grandes latitudes e longitudes, apesar da simplicidade dos sistemas vitais do gênero.

Os caramujos transmissores da esquistossomose também suportam bem as flutuações dos níveis e da correnteza das coleções hídricas que acontecem a cada estação, em função da pluviosidade. Como a quantidade de água e as variações de temperatura acarretam oscilações das taxas de mortalidade e da natalidade, supõe-se que as chuvas e o clima sejam os fatores relevantes para a determinação das taxas de mortalidade e natalidade, e das variações verificadas na dinâmica populacional das espécies das bionfalárias na natureza.

Todavia, ainda que as variações das densidades populacionais na natureza sejam perfeitamente admissíveis, as situações descritas rotineiramente nem sempre são bons indicadores do comportamento das espécies. Na maioria das vezes as avaliações das densidades populacionais descritas na literatura especializada tomam como base o número de exemplares coletados, dado que é sujeito à experiência das equipes que realizam as pesquisas de campo e às diferenças de periodicidade das coletas. Conquanto exista a possibilidade do desenvolvimento de estudos consistentes por meio de metodologia apropriada, fato é que os conhecimentos disponíveis, uma vez que reportam dados influenciados por determinantes extrínsecos à biologia, tornam as informações pouco confiáveis para o estabelecimento de relações de dependência menos empíricas.

Na prática, as informações obtidas nos trabalhos de campo indicam a realização de coletas mais produtivas em momentos de estiagem, devido à redução dos volumes e das áreas das coleções hídricas. Em oposição, as coletas nos períodos mais chuvosos, também pela maior possibilidade de dispersão de exemplares, se tornam mais árduas e menos produtivas. Dessa maneira, os resultados do acompanhamento das variações das densidades oscilam para mais ou para menos por razões alheias ao potencial biológico, ou ainda, pela realização de trabalhos associados ao programas de controle da transmissão de *S. mansoni* na busca de exemplares naturalmente infectados. A questão dos cronogramas é praticamente insolúvel porque a transmissão do parasito também varia com implicações epidemiológicas muito distintas em uma área ou região.

O emprego de instrumentos rústicos de coleta, como conchas e peneiras de todos os tipos e tamanhos, e a inexistência de padronização dos procedimentos das pesquisas de campo previstas e realizadas nos programas de controle, são procedimentos que dificultam a interpretação dos resultados obtidos nos trabalhos de campo pelas equipes dos programas de controle da endemia. Por essas razões, grande parte dos dados obtidos com as coletas de caramujos no âmbito dos programas de controle serve quase que exclusivamente à delimitação da produtividade das equipes e, eventualmente, à análise circunstancial da situação epidemiológica. Se de um lado as coletas nos programas não apresentam bons indicadores da biologia das espécies, de outro, a regularidade da coleta e exame dos caramujos fornece importantes elementos e subsídios ao planejamento das atividades destinadas à busca de portadores para tratamento em momentos mais adequados para a expectativa de rendimento máximo do diagnóstico laboratorial da esquistossomose em amostras de fezes.

Apesar das lacunas dos conhecimentos, é certo o pressuposto da convergência de diversos condicionantes e determinantes biológicos para a adaptação e desenvolvimento simultâneo das relações necessárias à sobrevivência do parasito e do caramujo. Assim, supõe-se que a simples disponibilidade da espécie naturalmente suscetível ao desenvolvimento do parasito, característica genética variável intra e interespecificamente entre as espécies dos caramujos transmissores, sem a regularidade de contatos das partes, é insuficiente ao aperfeiçoamento das linhagens e ampliação dos domínios do *S. mansoni*. Merece destaque a dominância da resistência sobre a suscetibilidade, características hereditárias de intensidade variável, adquiridas por determinação poligênica. Afora as questões do contexto biológico, é previsível a maior facilidade de contatos dos miracídios com os caramujos e das cercárias com o homem nas etapas ambientais do ciclo biológico do parasito, pela redução dos volumes hídricos que antecedem os momentos de seca. Nessas épocas, os moradores residentes em localidades desprovidas ou com deficiências de saneamento básico ficam mais vulneráveis à aquisição de vermes e ao desenvolvimento da doença. Embora a disponibilidade de água seja fundamental para a sobrevivência das espécies relacionadas no ciclo biológico de *S. mansoni*, em contraste com mais secos, as estações chuvosas, provavelmente por propiciarem a flutuação das densidades dos caramujos, a dispersão passiva dos ovos, dos caramujos e das cercárias, parecem menos favoráveis ao desenvolvimento do parasito. Essa hipótese se consubstancia na pequena quantidade de registros que relatam a aquisição da esquistossomose em períodos de maiores índices pluviométricos, conquanto reportem eventuais aumentos da prevalência depois de enchentes (Paraense & Santos, 1953; Machado, Guerra & Abreu, 1955; Machado & Abreu, 1955; Ramos, Piza & Fróes, 1970).

As oscilações do nível e volume dos ambientes hídricos, como ocorrem em diversas áreas do nordeste e centro-oeste brasileiro, é uma situação favorável à seleção natural de indivíduos de certas espécies de planorbídeos e prosobrânquios que apresentam a aptidão para a anidrobiose, como demonstrado na Figura 3.

Figura 3 – Exemplares expostos às variações do nível das águas

As respostas para a sobrevivência são a diapausa, quando certo número de indivíduos interrompe o desenvolvimento ou a quiescência (estivação ou hibernação) frente à escassez de alimento, diminuição ou elevação da temperatura. Na escassez de água é comum que parte da população dos caramujos permaneça enterrada em fendas e pequenos buracos, até a retomada dos níveis das águas. Com a recuperação das coleções hídricas, os caramujos retomam a atividade, realizando acasalamentos e posturas de ovos e o repovoamento rápido dos ambientes hídricos. O enterramento de certo número de exemplares em estado de torpor ou dormência também é uma das razões da baixa eficiência das aplicações de moluscicidas. Experimentalmente sabe-se da estivação de *L. columella* (Gomes, 1975). Na natureza, é bem conhecida a resistência à seca temporária de *B. glabrata*, *B. tenagophila*, *B. straminea* e *B. schrammi* (Paraense, Fauran & Courmes, 1964; Paraense, 1970; Teles & Marques, 1989).

Em relação às variações da temperatura, as observações de campo demonstram a conservação das atividades vitais dos caramujos em gradientes de 12°C a 36°C. Nos limites desse intervalo, em laboratório, a maioria dos exemplares apresenta comprometimento da capacidade locomotora e, depois da imersão, permanece no fundo dos recipientes. Experimentalmente as temperaturas mais favoráveis ao desenvolvimento de *S. mansoni* ficam entre 22ºC e 26ºC. A maioria das descobertas de exemplares infectados na natureza também acontece nesse intervalo de temperatura (Pinotti et al., 1960; Rosas, 1987; Baptista, Vasconcellos & Schall, 1989; Baptista & Jurberg, 1993; Kloss et al., 2001; Teles et al., 2002). Apesar da ação limitante da temperatura, parece pouco provável que o envolvimento mais freqüente de *B. tenagophila* na transmissão de *S. mansoni* em regiões de clima temperado e de *B. glabrata* e *B. straminea* em regiões de temperaturas mais elevadas, como as observadas acima da latitude 20ºS, tenha relação exclusivamente dependente da temperatura. Outros condicionantes, como a turbidez, certamente são fundamentais na concretização do ciclo de *S. mansoni* em condições naturais, uma vez que é bem conhecido o efeito da luminosidade na eclosão dos miracídios. Embora a salinidade seja um condicionante do desenvolvimento de um grande número de espécies aquáticas, a presença de criadouros colonizados densamente e o envolvimento regular de *B. tenagophila* na transmissão do parasito em áreas litorâneas do sudeste indica que as variações de salinidade impostas pelo regime das marés são bem superadas. Lamentavelmente os efeitos e os limites da influência das variações da salinidade no desenvolvimento de *Biomphalaria* permanecem temas pouco explorados pelos estudiosos do assunto. Como os levantamentos mostram a ampla distribuição geográfica da maior parte das espécies que compõem o elenco sistemático de *Biomphalaria*, condição que sugere a capacidade de sobrevivência em ambientes com razoáveis variações dos parâmetros físico-químicos, supõe-se que esses aspectos isoladamente tenham apenas influência relativa na sobrevivência das espécies. Como acontece com a temperatura, apesar da simplicidade dos procedimentos para a realização de estudos acurados sobre a influência das características físico-químicas da água, como dureza e turbidez, ou quantidade de íons e sais minerais dissolvidos, os conhecimentos atuais permitem pouco mais que conjecturas. Um ponto central para a demonstração da insuficiência dos conhecimentos sobre o assunto é a falta de informações sobre as fontes, capacidade de absorção e limites da disponibilidade de cálcio no desenvolvimento das populações de *Biomphalaria* e de outros moluscos, em que pese a inequívoca importância desse elemento químico na formação e crescimento das conchas. No campo das suposições, a disseminação por biótopos tão diversificados, de fundos rochosos, arenosos ou lodosos, em águas paradas ou de pouca correnteza, de terrenos cristalinos ou sedimentares, demonstra a capacidade de sobrevivência da maioria das espécies de *Biomphalaria* a gradientes químicos e físicos muito dilatados.

Com a atenção dispensada ao registro de ocorrências das espécies, resultante da necessidade de investigações para a descoberta de focos e classificação dos casos da esquistossomose, o acúmulo de conhecimentos sobre a distribuição geográfica das populações de *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea* apontam a superação de barreiras geográficas importantes e limitantes às outras espécies animais comuns aos ambientes hídricos. A consolidação dessas informações denota a presença quase que constante em todos os domínios geográficos brasileiros e, chama a atenção, a menor diversidade específica e o pequeno número de ocorrências de *Biomphalaria* e de outros planorbídeos na Região Amazônica, em que pese a grande disponibilidade hídrica da região. Os motivos dessa situação permanecem inexplicáveis, apesar da regularidade dos alertas para a possibilidade de disseminação da esquistossomose em algumas áreas da região, como já se evidenciou em grandes extensões do norte do território paraense.

Chama atenção a preferência de certas espécies de pulmonados por ambientes ricos em matéria orgânica, que no caso das espécies envolvidas na transmissão de *S. mansoni*, trata-se de mais um comportamento que otimiza as possibilidades de transmissão de *S. mansoni*. As observações de campo mostram que a proliferação de *B. glabrata* e *B. tenagophila*, bem como de outras espécies de pulmonados, como *P. marmorata*, é mais intensa em ambientes que recebem dejetos e outros detritos de origem orgânica. As coletas de caramujos para a descoberta de focos do parasito revelam que as maiores concentrações de exemplares geralmente acontece nos sítios contaminados pelas descargas de efluentes domésticos individuais ou coletivos. Em contraste, observa-se a preferência de *B. peregrina*, *B. intermedia* e *B. occidentalis* por ambientes menos poluídos ou isentos de poluição, de ocupação humana menos intensa, como nas áreas rurais. Teles (1989, 2005) ainda observou a preferência dos caramujos transmissores por ambientes muito modificados, da proximidade das residências humanas. Nos estudos realizados em território paulista, a concentração de criadouros de *B. tenagophila* é maior em zonas de várzeas e litorâneas, enquanto *B. glabrata* e *B. straminea* apresenta distribuição ao acaso por extensas áreas do litoral e interior. O panorama verificado não indica a homogeneidade da distribuição das espécies nas bacias hidrográficas. Em São Paulo, a continuidade e descontinuidade distributiva das populações dos caramujos hospedeiros intermediários de *S. mansoni* apresenta relação com a intensidade da ocupação humana do solo. Como, entre as conseqüências do incremento da ocupação do solo pelo homem, a poluição ambiental é regra, torna-se inevitável a constatação que as alterações ambientais promovidas favorecem a aproximação dos hospedeiros intermediários. Das demais interações de *Biomphalaria* com outros componentes do meio biótico, a competição homo e heteroespecífica, é uma relação que demanda a equivalência de nichos ecológicos e a superioridade reprodutiva. Naturalmente, as espécies e os indivíduos mais velhos, menos aptos ou doentes ficam mais sujeitos à exclusão pelos competidores. Em geral, os efeitos da competição nas densidades das espécies em ambientes equilibrados são pouco perceptíveis. A própria ação dos competidores por áreas mais vastas de ecossistemas equilibrados é um fenômeno relativamente raro. O mais freqüente é a observação dos efeitos da competição em sítios isolados. Quando da competição interespecífica, a eliminação dos indivíduos menos capacitados viabiliza a seleção de gerações mais resistentes do ponto de vista biológico e, portanto, melhor preparados para a sobrevivência às adversidades ecológicas e ambientais. As conseqüências drásticas da competição interespecífica pela introdução de espécies exóticas são mais comuns em monoculturas ou áreas muito depauperadas de nutrientes e outros recursos essenciais. Para a redução drástica ou a extinção das espécies alóctones por espécies introduzidas, necessariamente concorrem a superioridade do potencial biológico da espécie

estrangeira e a inexistência de predadores e parasitos previamente adaptados. Na ausência de concorrentes, a espécie exótica, desde que competente na captação e utilização dos recursos nativos, tende à propagação por áreas onde existam os recursos que necessita.

Com base nesse preceito ecológico, a possibilidade do emprego de competidores no controle das populações de *Biomphalaria*, ainda que as informações sobre as valências e superioridade biológicas das espécies preconizadas com essa finalidade fossem limitadas a situações isoladas, foi um assunto bastante explorado em passado recente. O levantamento de espécies tidas como competidoras de *Biomphalaria* motivou algumas revisões do assunto e a publicação de recomendações e cuidados na realização de estudos prevendo a introdução de espécies exóticas, sobretudo porque algumas das espécies preconizadas no controle biológico das espécies dos caramujos transmissores de *S. mansoni* não raro são responsáveis pela veiculação de outros parasitos do homem (WHO, 1981, 1982, 1984a, 1984b). A lista de possíveis concorrentes das espécies hospedeiros intermediários de *S. mansoni* relaciona prosobrânquios, como *Marisa cornuarietis*, *Thiara tuberculata*, *T. granifera* e de *Ampullaria* (WHO, 1984b; Paulinyi & Paulini, 1971; Prentice, 1983; Freitas et al., 1987; Pointier, Guyar & Establet, 1988; Pointier, 1989; Pointier, Guyar & Mosser, 1989; Perez, Vargas & Malek, 1991; Pointier, Frederic & Mazille, 1991; Pointier & Guyard, 1992; Pointier, 1993, 2001; Guimarães, Souza & Soares, 2001). Entre os pulmonados são citadas espécies de *Helisoma* (Guimarães, Souza & Soares, 2001) e do próprio gênero *Biomphalaria* (Joubert & Kock, 1990; Kawazoe et al., 1980; Barbosa, Costa & Arruda, 1983, 1984, 1985; Barbosa, Barbosa & Arruda, 1993; Silva, Soares & Barreto, 1997). Segundo a maioria das observações, a possibilidade de atuação dos competidores refere à possibilidade da substituição das espécies dos transmissores nos focos da esquistossomose, por deslocamento. Entre os gêneros e espécies dos competidores, sabe-se do envolvimento de *T. granifera* na transmissão de *Paragonimus westermani* e *P. kellicotti*, e da suscetibilidade de *H. duryi* a *Angiostrongylus cantonensis*.

Ao longo do tempo que duraram as propostas dos estudos, a utilidade do emprego de competidores no controle da esquistossomose continuou um assunto controverso pela falta de informações que indicassem a superioridade dos competidores e pelos riscos que envolvem a introdução de espécies exóticas. Os resultados das tentativas de controle biológico com competidores ainda hoje permanecem escassos.

A literatura dispõe do registro da exclusão de *B. glabrata* por *T. granifera* em coleções hídricas de pequena extensão, de uma localidade das Antilhas. O que chama atenção no evento é o fato que esse prosobrânquio aparentemente não compartilha o nicho ecológico com *B. glabrata*, já que os exemplares dos tiarídeos vivem regularmente no fundo das coleções hídricas. Nos casos de *H. trivolvis* e *H. duryi*, o seguimento dos estudos demonstrou que a possibilidade da concorrência é bastante remota, uma vez que essas espécies produzem menos desovas e ovos que as espécies de *Biomphalaria* e, quando da autofecundação, os indivíduos da geração F1 são inférteis (Paraense & Correa, 1988).

A superioridade reprodutiva verificada entre espécies de *Biomphalaria* também justificou a realização de estudos e pesquisas sobre a competição interespecífica no gênero. Em algumas circunstâncias isoladas, a observação do deslocamento de *B. glabrata* por *B. tenagophila* e *B. straminea* motivou a continuidade dos trabalhos de laboratório, dada a possibilidade da substituição de transmissores locais por espécies resistentes às linhagens circulantes de *S. mansoni*. Com a realização de inquéritos malacológicos mais abrangentes demonstrou-se que a sintopia é um fenômeno mais comum do que se presume, bastando para tanto a simpatria das populações das diferentes espécies, condição suficiente para o compartilhamento

das coleções hídricas (Teles, 1988). Nesse caso, a quantidade de biótopos divididos parece mais dependente do tamanho das áreas de sobreposição das espécies que da concorrência.

Outra possibilidade regularmente citada para a interferência nas densidades populacionais de *Biomphalaria* pressupõe a ação predatória de peixes, aves, roedores, insetos e outras espécies de moluscos. A divulgação da descoberta de espécies predadoras motivou especulações sobre a possibilidade de controle biológico da transmissão de *S. mansoni* (Fergunson, 1958; Andrade & Antunes, 1969: Coutinho, 1976; Cutrim et al., 1979; Barnish & Prentice, 1980; Feitosa & Andrade, 1986; Weinzettl & Jurberg, 1990. Na prática, a suposição do controle da transmissão natural da esquistossomose pela ação de predadores e competidores jamais se confirmou.

Com exceção de um pequeno número de espécies que pratica o canibalismo de indivíduos jovens, a predação é uma interação heteroespecífica natural e dependente, onde as presas mais freqüentes são os indivíduos idosos ou doentes. Na essência, a predação favorece a evolução das espécies, com a eliminação de inaptidões. De outro lado, a escassez da presa, em circunstâncias normais, inevitavelmente induz a redução populacional do próprio predador. Em *Biomphalaria*, ao contrário do observado em situações estanques, onde a falta de espaços e de abrigos favorece a ação dos predadores, em áreas mais amplas, o mais comum é a permanência dos caramujos, o que indica que a interação com os predadores é naturalmente equilibrada.

A ação dos parasitos também incitou a realização de trabalhos experimentais que visaram o controle de *Biomphalaria*. Merecem destaque os estudos que sugerem a possibilidade da redução de densidades dos caramujos por oligoquetas do gênero *Chaetogaster* (Andrade & Campos, 1969), vermes ectoparasitos relativamente comuns, assim como são certas espécies dos hirudíneos pertencentes aos gêneros *Dero* e *Helobdella*. As propostas nessa linha nunca foram adiante possivelmente devido às dificuldades que envolvem a criação em massa desses organismos.

As interações parasitárias ainda suscitaram curiosidade depois da descoberta do antagonismo apresentado entre certas espécies de parasitos em infecções simultâneas (Lie et al., 1974; Lie, 1982; Maldonado Jr. et al., 2001) e da divulgação de estudos que descreveram a penetração dos miracídios em caramujos impróprios ao desenvolvimento de *S. mansoni* (Combes & Moné, 1987; Andrade & Souza, 1979). A confirmação do valor utilitário do antagonismo das interações parasitárias é de difícil confirmação, pelas razões anteriores: a falta de perspectivas para a criação em massa dos parasitos. Quanto ao uso de outras espécies de caramujos como engodo às infecções por *S. mansoni*, estudos recentes indicam a existência da atração das larvas do parasito por substâncias produzidas pelas espécies de caramujos naturalmente suscetíveis (Brasio et al., 1985), indicando que a penetração dos miracídios em espécies inadequadas ao desenvolvimento não é a regra.

Com base no estágio atual dos conhecimentos, tudo leva a crer que as possibilidades de controle da transmissão de *S. mansoni* por meio da exacerbação de interações biológicas desfavoráveis aos hospedeiros intermediários seja de difícil operacionalização, principalmente porque a criação em massa das espécies com a manutenção dos potenciais reprodutivos solicita recursos pessoais e financeiros de monta. De outro lado, se a divulgação de relatórios de campo e de laboratório sobre os resultados das coletas e exames dos caramujos fosse rotineira, muitas situações tidas como excepcionais se mostrariam corriqueiras, o que evitaria o dispêndio de esforços e recursos financeiros em projetos que visam a demonstração da viabilidade do controle biológico das espécies dos caramujos transmissores de *S. mansoni*.

A experiência, os trabalhos de coleta e a prática no exame das espécies procedentes de focos e criadouros de *Biomphalaria* mostram que a presença de espécies tidas como competidoras e predadoras, bem como a eliminação de cercárias de outras espécies de trematódeos e as infestações dos caramujos por ectoparasitos não são tão raras assim. Na maior parte das vezes, salvo os cenários ambientais muito modificados pelo homem, o que se observa nos trabalhos de campo é a convivência de diversas espécies dos moluscos.

Controle com moluscicidas

Durante praticamente toda a década de 70 do século passado, as aplicações de moluscicidas tiveram grande destaque nos programas de controle da esquistossomose, sobretudo porque as drogas disponíveis para o tratamento dos casos diagnosticados, além da eficiência limitada, exigiam o tratamento ambulatorial ou hospitalar e apresentavam efeitos colaterais muito intensos e graves (WHO, 1993, 2001). As restrições para o tratamento dos portadores humanos do parasito em larga escala foram decisivas para a adoção de modelos de controle que privilegiaram as aplicações dos moluscicidas. Com essa orientação seguiu-se a intensificação dos estudos sobre a ação de diversos produtos e substâncias químicas. Frente ao alto custo e ignorando que a baixa eficácia dos moluscicidas sintéticos era decorrente de questões ambientais e de detalhes da biologia das bionfalárias, houve a concentração de esforços na descoberta de moluscicidas obtidos a partir de extratos vegetais (Kloos & MCullough, 1981; Juberg, Vasconcellos & Mendes, 1989; McCullough, 1992; Vasconcellos et al., 2003).

Em tese, apesar do advento de drogas eficientes no tratamento de *S. mansoni*, as aplicações de moluscicidas ainda hoje constituem a única atividade profilática que em determinadas circunstâncias apresenta a possibilidade da interrupção temporária da atividade dos focos, pelo menos quando estes correspondem a coleções hídricas bem delimitadas, como lagoas de pequeno porte, poços ou valas de pouca extensão. As principais restrições às aplicações dos moluscicidas devem-se aos efeitos deletérios nos demais componentes da fauna dos ambientes hídricos. As aplicações são recomendáveis em situações muito especiais, após minuciosa análise epidemiológica, precedida da descoberta de caramujos eliminando cercárias de *S. mansoni*. Assim, o controle químico dos focos é uma tentativa da redução momentânea dos riscos da infecção humana. Já os impactos das aplicações dos moluscicidas na redução das prevalências são menos significativos. A queda continuada da incidência e da prevalência exige o desenvolvimento de outras atividades profiláticas, como a busca e tratamento de casos para a redução das cargas parasitárias do verme e, consequentemente, da morbidade e a melhoria das condições do saneamento básico.

O combate aos caramujos foi tentado com diversos produtos e substâncias químicas, entre as quais o pentaclorofenato de sódio, o termofosfato magnesiano, produto de uso na correção da acidez do solo, o metaldeído e o hidróxido de cálcio, um subproduto do carbureto para a produção de acetileno. A indústria desenvolveu o hexabutildistanoxano (TBTO®), a N-tritilmorfolina ou trimenfort (Frescon®) e a niclosamida (Bayluscide®), o produto mais recomendado e utilizado em todo o mundo. A niclosamida é um pó molhável para aplicação na forma diluída, por aspersão ou gotejamento, em quantidades proporcionais ao volume da coleção hídrica.

O tempo demonstrou que as aplicações de niclosamida, ainda que promovam a redução temporária das densidades dos caramujos e a mortalidade dos miracídios e das cercárias livres no ambiente, também atingem outros componentes da fauna, principalmente os peixes e anfíbios. A experiência também mostrou que os moluscicidas são ineficazes na continuidade da contaminação ambiental por ovos de *S. mansoni*,

pois as densidades dos caramujos se recompõem rapidamente a partir de sítios primários de dispersão, pela reprodução de sobreviventes que permanecem em abrigos naturais e pela eclosão de desovas, uma vez que a ação da maioria dos moluscicidas nessas estruturas é pouco eficiente. Em diversas ocasiões o controle da transmissão da esquistossomose foi tentado exclusivamente com aplicações ambientais da niclosamida com resultados pouco animadores (Camargo, 1977; Katz, Rocha & Pereira, 1980; Barbosa, 1980).

Quanto aos efeitos dos moluscicidas de origem vegetal, apesar da falta de estudos de campo mais acurados, é quase certo que a eficiência das aplicações seja limitada pelas mesmas razões apontadas para a niclosamida. Como no caso dos produtos químicos, os extratos vegetais, além dos problemas de estabilidade, conservam os custos elevados das operações de campo destinadas ao controle das densidades dos caramujos.

As experiências obtidas na condução dos programas de controle da esquistossomose mostram que o emprego dos moluscicidas suscita a realização de análises acuradas da relação custo/benefício, que agreguem a análise da validade dos prejuízos ambientais causados pelas aplicações nos focos e das possibilidades de alcance dos objetivos pretendidos, sobretudo quando o que se pretende é a redução da morbidade. Na maioria das vezes, as aplicações de moluscicidas são recomendadas para o controle da transmissão da endemia em focos isolados de áreas rurais e urbanas, onde os prejuízos ambientais não são maiores que os resultantes da própria contaminação humana com detritos e dejetos. Nesse sentido o acompanhamento epidemiológico temporal da situação, com a realização de coletas e exames periódicos dos caramujos, fornece informações bastante úteis para o dimensionamento adequado dos focos e dos momentos mais propícios às aplicações. Em áreas rurais, onde geralmente os focos da esquistossomose estão no peridomicílio ou em sítios freqüentados pela população para lazer e afazeres domésticos, os resultados das aplicações dos moluscicidas, se bem conduzidas, podem ser razoáveis, embora como já salientado, não descartem a necessidade do diagnóstico e tratamento dos portadores do parasito. Quanto aos focos de áreas urbanas ou periurbanas, embora o isolamento seja menos comum que nas áreas rurais, o tratamento é mais complicado, pois os focos geralmente constituem valas e pequenos córregos destinados à drenagem das chuvas e de esgotos e outros despejos domésticos. Essas construções geralmente são dendríticas e integradas às bacias hidrográficas, que exigem grandes volumes de moluscicida e dificultam muito as aplicações dos moluscicidas. As melhores perspectivas do alcance dos objetivos pretendidos com as aplicações são em focos isolados, desde que tomadas as precauções e analisada a relação custo/benefício dos impactos ambientais causados pelas aplicações.

Em ambientes hídricos de grande porte, como os de barragens, rios e ribeirões, entre outros, as aplicações de moluscicidas são inviáveis, seja pela quantidade necessária do produto, como pela impossibilidade da cobertura total da coleção hídrica por aspersão, técnica que permite somente as aplicações em margens. Quando da existência de fluxo, resta a alternativa do gotejamento, um procedimento que geralmente amplifica os efeitos deletérios nos demais elementos da fauna. Do ponto de vista operacional, o gotejamento solicita um levantamento detalhado da situação, pois o comprometimento da eficiência profilática é expressivo devido à necessidade da manutenção permanente das diluições e reposição do produto. Como os focos de esquistossomose, localizados em coleções hídricas de água corrente, geralmente integram bacias colonizadas por caramujos em toda a extensão, com a interrupção do gotejamento segue-se o repovoamento rápido e o retorno da transmissão de *S. mansoni* pela permanência dos casos humanos e das condições que permitem a contaminação ambiental por matérias fecais.

Considerando que os focos de *S. mansoni* acontecem em ambientes hídricos de todo o tipo, tamanho e profundidade, o que torna os cálculos das quantidades e do tempo das aplicações uma questão complexa, mesmo a possibilidade da interrupção temporária da transmissão do parasito, se estabelecida nos programas de controle, além do elevado custo financeiro, é um objetivo de difícil concretização. Assim, o controle da transmissão do parasito mediante a redução das densidades das populações dos caramujos, com os instrumentos e produtos disponíveis na atualidade é indiscutivelmente deficiente. O pequeno interesse na pesquisa e desenvolvimento de novos produtos, menos tóxicos e mais específicos, e talvez porque as tentativas do controle dos caramujos com moluscicidas não se fundamentam em conhecimentos que indiquem os momentos mais apropriados para a interferência dessa atividade na cadeia epidemiológica, quase sempre tornam a atividade pouco útil, pelo menos quando executada de maneira isolada.

CONSIDERAÇÕES E REFLEXÕES

Sem dúvida, a sobrevivência e a expansão das áreas colonizadas pelas populações de *Biomphalaria* dependem de um conjunto intrincado de vicissitudes e de complexas interações de caráter biótico e abiótico. Dessa maneira, as possibilidades de intervenções eficientes para o manejo das populações dos caramujos transmissores, independentemente do aprimoramento dos programas de controle da esquistossomose, exigem a busca de conhecimentos sobre as circunstâncias que favorecem ou dificultam a proliferação dos caramujos e de informações sobre os mecanismos envolvidos no desenvolvimento das interações hospedeiros/parasito.

No contexto geral, admite-se, com base no resultado de experimentos laboratoriais, com algumas diferenças conforme as linhagens utilizadas, que a espécie mais suscetível para o desenvolvimento de *S. mansoni* é *B. glabrata*, seguida de *B. tenagophila* e *B. straminea*. Conquanto os resultados dos experimentos sejam incontestes, essas condições não indicam a possibilidade da definição dos potenciais de risco em função da presença de uma ou outra espécie. É bem conhecido que *B. straminea* é responsável pela existência de muitos focos no nordeste brasileiro, apesar da menor adaptação ao parasito, assim como *B. tenagophila* mantém a atividade de grande número de focos da endemia na região sudeste. Portanto, a situação epidemiológica não expressa exatamente os potenciais demonstrados experimentalmente. A situação real explica-se pela ação combinada de outros fatores e condicionantes biológicos e ambientais compensatórios das dificuldades naturais ao desenvolvimento intramolusco do parasito. No passado, a crença que a presença de espécies menos suscetíveis dificultava o aparecimento de focos, muitas vezes permitiu o crescimento das prevalências da endemia. Essas situações demonstram a relevância da busca de conhecimentos sobre os principais determinantes da transmissão, para posterior abastecimento do sistema de vigilância epidemiológica com informações precisas, logo favoráveis ao dimensionamento correto do problema (Teles, 1994; Coura Filho, 1977, 1997; MacDonald, 1965).

Ainda que a presença de caramujos naturalmente suscetíveis constitua um dos fatores determinante da transmissão da esquistossomose, a instalação e a manutenção dos focos seguem padrões que são peculiares a cada realidade epidemiológica. Existem indicações de que o estabelecimento dos focos impõe a contaminação do ambiente com fezes por períodos longos para o desenvolvimento da suscetibilidade até o ponto que pequenas quantidades de ovos são suficientes para a manutenção da

transmissão (Gryssels, 1996; Santana, Magalhães & Rangel, 1978). Dessa maneira, os cuidados com a vigilância epidemiológica tornam-se imprescindíveis quando constatada a presença das espécies naturalmente suscetíveis. A capacidade de melhoria da suscetibilidade já foi demonstrada em condições de laboratório (Fernandez & Pieri, 2001), o que corrobora com o pressuposto aventado. Como existem situações em que os caramujos sobrevivem sob amplos parâmetros de ordem biológica e físico-química em uma mesma localidade (Thomas, 1987), algumas vezes prevalece o entendimento de que a convivência parasito/hospedeiros seja isenta da ação dos fatores limitantes, o que certamente seria uma situação incomum na natureza e contrária à evolução das espécies.

O mais provável é que a interferência dos fatores limitantes seja gradativa. A falta prolongada de chuvas, por exemplo, é um fator que importa no crescimento da taxa de mortalidade dos caramujos, assim como o excesso das precipitações de chuvas. Com o aumento da vazão das coleções hídricas, os caramujos ficam sujeitos ao carreamento e a choques com obstáculos que podem causar ferimentos e morte. Portanto, de uma maneira geral, as oscilações rápidas dos níveis dos ambientes hídricos promovem mudanças substantivas nas densidades das populações dos caramujos, condição que é útil ao controle temporário da transmissão da esquistossomose, a exemplo do que se pretende com as aplicações de moluscicidas e com a limpeza periódica da vegetação das margens, dragagem e canalização.

Outro ponto que merece destaque é a possibilidade da distribuição heterogênea das populações. A aglomeração ou dispersão ao acaso, dos caramujos, é outro ponto relevante para a transmissão do *S. mansoni*. É perfeitamente aceitável que a infecção dos caramujos pelos miracídios seja facilitada pela proximidade e quantidade dos caramujos disponíveis em cada criadouro. Dessa maneira, seria muito importante a realização de estudos que indicassem a relação densidade/volume hídrico em que a infecção se viabiliza. Na atualidade, supõe-se que a instalação dos focos depende da ocorrência de espécies dos caramujos transmissores em densidades empiricamente definidas como elevadas, independentemente de outros determinantes ambientais.

Quando de ambientes hídricos de maior porte, como os rios e ribeirões, lagos e lagoas, muitas vezes os caramujos só ocorrem em determinados trechos, por vezes muito afastados entre si, sem nenhuma razão aparente. Essas situações também exigem a realização de estudos mais acurados, uma vez que a dispersão ativa ou passiva permite a colonização indiscriminada dos sítios remansosos, com vegetação marginal e emergente, bastante comuns ao longo do curso dos rios e ribeirões. Essas e outras vicissitudes biológicas e ecológicas acrescem dificuldades para a descoberta e delimitação dos focos, independentemente da periodicidade e abrangência das pesquisas de campo.

Na linha de controle que apresenta alternativas biológicas embasadas na ação de competidores, predadores e parasitos, as razões apresentadas mostram que as possibilidades de sucesso são muito restritas. Em síntese, o nível dos conhecimentos disponíveis até o momento não permite a sustentação da viabilidade da maioria das propostas. Na prática, os registros apenas descrevem situações isoladas e momentâneas. A revisão mais realista do assunto mostra muitas limitações para a realização de avanços nessa linha de estudo (Frandsen, 1987). Nesse sentido, a concentração de esforços e de recursos financeiros para a execução de pequenas obras e cuidados ambientais, tais como os aterros, limpeza e canalização, de baixo custo e comprovadamente eficientes para a redução das densidades populacionais dos caramujos ou dos contatos da população com os focos, parece alternativa mais conseqüente e de maior valor prático.

Com certeza, essas intervenções, apesar da simplicidade, reduzem a disponibilidade de abrigos e elementos essenciais responsáveis pela sobrevivência e proliferação dos caramujos.

Já a melhoria das condições e da abrangência dos níveis do saneamento básico, independentemente dos reflexos na disponibilidade de matéria orgânica, é condição essencial para a proteção da população humana dos efeitos da infecção por *S. mansoni* e por outros agentes patogênicos. Dada a excepcional desenvoltura das espécies suscetíveis para a sobrevivência em ambientes muito modificados pelo homem e poluídos por matéria orgânica, pressupõe-se que a recuperação ambiental proporcionada pelo funcionamento dos sistemas de coleta e tratamento dos esgotos seja importante também na redução das densidades populacionais dos caramujos. A simples observação de que a abundância de determinadas espécies em ambientes poluídos é infinitamente superior à verificada nos ambientes mais preservados também justifica que a proliferação de determinadas espécies não depende exclusivamente da superioridade reprodutiva ou da ação de outros componentes ou fatores isolados do contexto ambiental.

A falta de conhecimentos detalhados sobre a biologia das espécies de *Biomphalaria* está diretamente relacionada com a formulação de propostas de controle com fundamento em determinadas interações ambientais, como a competição, a predação e outras, sem atenção para o fato de que o ambiente determina os limites dessas relações. Talvez a concentração de esforços para a identificação de elementos essenciais ao desenvolvimento dos caramujos consista uma alternativa mais viável para o aprimoramento do controle. Além disso, a realização de estudos cuidadosos e bem formulados possibilitará o esclarecimento de questões elementares, que hoje dificultam a avaliação nas atividades de rotina dos programas de controle e vigilância da transmissão de *S. mansoni*.

PERSPECTIVAS

No Brasil, as tentativas do controle da esquistossomose e dos caramujos transmissores da endemia já duram mais de três décadas. Ainda que os avanços conseguidos sejam indiscutíveis, predominam os relatos que apontam a insuficiência de recursos humanos e financeiros como uma das principais dificuldades para o alcance dos objetivos estabelecidos nos programas de controle. Também não são raros os apelos para a necessidade da melhoria das condições socioeconômicas e dos níveis educacionais, relegando a um plano secundário a importância dos conhecimentos sobre aspectos biológicos para o sucesso das intervenções profiláticas. Paradoxalmente, o controle da endemia só avançou de maneira satisfatória depois da disponibilidade de um medicamento que possibilitou o tratamento dos casos de forma simples e com poucos efeitos colaterais e restrições. Com a perspectiva da redução das possibilidades do desenvolvimento de formas graves da doença, a concentração de esforços e de recursos no diagnóstico e tratamento dos portadores humanos, restou o pequeno interesse para a realização de estudos e pesquisas biológicas consistentes. O resultado do baixo empenho na busca de informações que aumentem a eficácia das outras atividades profiláticas, como o controle das populações das espécies dos caramujos transmissores, é a disponibilidade de um conjunto de informações fragmentadas sobre outras circunstâncias importantes para epidemiologia da esquistossomose que transcendam a obviedade da contaminação ambiental por deficiências do saneamento básico. O detrimento do empenho no estudo de fatores aparentemente inespecíficos, de âmbito biológico e ecológico, certamente é uma das barreiras para a continuidade dos avanços do controle eficiente da endemia.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, R. M. & ANTUNES, C. M. F. Combate biológico: *Tilapia melanopleura* Duméril versus *Biomphalaria glabrata* (Say), em condições de laboratório. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 21: 49-58, 1969.

ANDRADE, R. M. & CAMPOS, L. G. R. Infestação natural de *Biomphalaria straminea* por oligoquetas do gênero *Chaetogaster*. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 21: 27-36, 1969.

ANDRADE, R. M. & SOUZA, C. P. *Pomacea haustrum* (Reeve, 1856) como engodo à infecção por *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907). *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 31: 59-69, 1979.

BAPTISTA, D. F. & JURBERG, P. Factors conditioning the habitat and the density of *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) in the isolated schistosomiasis focus in Rio de Janeiro city. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 88: 457-467, 1993.

BAPTISTA, D. F.; VASCONCELLOS, M. C. & SCHALL, V. T. Study of a population of *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) and schistosomiasis transmission in "Alto Boa Vista", Rio de Janeiro. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 84: 325-332, 1989.

BARBOSA, C. S.; BARBOSA, F. S. & ARRUDA, F. Long-therm controlled field experimento n the competition between two species of *Biomphalaria* (Mollusca, Basommatophora), the snail vectors of *Schistosoma mansoni* in Northeastern Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, 9: 170-176, 1993.

BARBOSA, F. S. Considerações sobre métodos profiláticos no controle da esquistossomose. *Ciência e Cultura*, 32: 1.628-1.632, 1980.

BARBOSA, F. S.; COSTA, D. P. P. & ARRUDA, F. Competitive interactions between species of freshwater snails. 1. Laboratory: 1ª General metodology. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 78: 335-341, 1983.

BARBOSA, F. S.; COSTA, D. P. P. & ARRUDA, F. Competitive interactions between species of freshwater snails. I. Laboratory studies: 1b. Comparative studies of the dispersal and vagility capacities of *Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria straminea*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 79: 163-167, 1984.

BARBOSA, F. S.; COSTA, D. P. P. & ARRUDA, F. Competitive interactions between species of freshwater snails.I. Laboratory. 1c. Comparative survival of *Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria straminea* kept out water. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 80: 155-157, 1985.

BARNISH, G. & PRENTICE, M. A. Predation of the snail *Biomphalaria glabrata* by freshwater schimps in St. Lucia, West Indies. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 76: 117-120, 1980.

BRASIO, B. C. et al. Verificação da resposta de miracídios de *Schistosoma mansoni* a substâncias provenientes de moluscos planorbídeos, 1985. *Revista de Saúde Pública*, 19: 154-170, 1985.

CAMARGO, S. Controle da densidade de planorbídeos. In: CONFERÊNCIA NACIONAL DE SAÚDE, VI, Painel Programa Especial de Controle da Esquistossomose, 1977, Brasil. *Anais...* Brasil: Ministério da Saúde, 1977.

CAZZANIGA, N. J. Predation of *Pomacea canaliculata* (Ampullaridae) on adult *Biomphalaria peregrina* (Planorbidae). *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 84: 97-100, 1990.

COMBES, C. & MONÉ, M. Possible mechanisms of the decoy effect in the *Schistosoma mansoni* transmission. *International Journal for Parasitology*, 17: 971-975, 1987.

COURA FILHO, P. Distribuição da esquistossomose no espaço urbano. 2. Aproximação teórica sobra a acumulação, concentração, centralização do capital e produção de doenças. *Cadernos de Saúde Pública*, 13: 415-424, 1977.

COURA FILHO, P. Distribuição da esquistossomose no espaço urbano. 1. O caso da região metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 13: 245-255, 1997.

COUTINHO, A. B. Um inimigo natural dos caramujos do gênero *Biomphalaria*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 10: 385-387, 1976.

CUTRIM, R. N. M. et al. Animais malacófagos da Baixada Maranhense. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 31: 71-83, 1979.

DOUMENGE, P. et al. *Atlas de la répartition mondiale des schistosomiasis/Atlas of gobal distribuition of schistosomiasis*. Paris: OMS/WHO, Ceget/CNR, 1987.

ELMOR, M. R. D.; VAZ, J. F. & GONÇALVES, L. M. C. Contribuição ao estudo da biologia de *Biomphalaria occidentalis* Paraense, 1981 e *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835), em condições de laboratório. *Revista de Saúde Pública*, 26: 343-349, 1992.

FEITOSA, V. R. & ANDRADE, R. M. Atividade predatória de *Astronotus ocellatus* (Cichlidae) sobre *Biomphalaria glabrata* (Planorbidae). *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 38: 19-56, 1986.

FERGUNSON, F. F. Biological notes on *Marisa cornuarietis*, a predator of *Australorbis glabratus*, the snail intermediate host of schistosomiasis in Puerto Rico. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 7: 640-642, 1958.

FERNANDEZ, M. A. & PIERI, O. S. Infection by *Schistosoma mansoni* Sambon 1907 in the first four months of life of *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96, supl.: 185-192, 2001.

FRANDSEN, F. Control of schistosomiasis by use of biological control of snail hosts with special reference to competition. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82, supl. IV: 129-133, 1987.

FREITAS, J. R. et al. Population dynamics of aquatic snails in Pampulha reservoir. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82, supl. IV: 299-305, 1987.

GENARO, O. Comparação da capacidade ovipositora de *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) e *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848), mantidas em laboratório. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 12: 23-27, 1978.

GOMES, P. A. C. Biologia de *Lymnaea columella* Say, 1817 (Mollusca, Gastropoda, 15. Basommatophora, Lymnaeidae). *Arquivos do Museu Nacional*, 55: 67-70, 1975.

GRYSSELS, B. Uncertainties in the epidemiology and control of schistosomiasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 55: 103-108, 1996

GUIMARÃES, C. T.; SOUZA, C. P. & SOARES, D. M. Possible competitive displacement of planorbids *Melanoides tuberculata* in Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96, supl.: 173-176, 2001.

JOUBERT, P. H. & KOCK, K. N. Interaction in the laboratory between *Helisoma duryi*, a possible competitor snail, and *Biomphalaria pfeifferi*, snail intermediate host of *Schistosoma mansoni*. *Annals of Tropical Medicine and Hygiene*, 84: 355-359, 1990.

JUBERG, P.; VASCONCELLOS, M. C. & MENDES, N. M. Plantas empregadas como moluscicida: uma visão crítica. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 84, supl. I: 78-83, 1989.

KATZ, N. & ALMEIDA, K. Esquistossomose, xistosa, barriga d'água. *Ciência e Cultura*, 55: 38-41, 2003.

KATZ, N.; ROCHA, R. S. & PEREIRA, J. P. Controle da esquistossomose em Peri-Peri (Minas Gerais) através de repetidos tratamentos clínicos e aplicações de moluscicida. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 22, supl. 4: 203-211, 1980.

KAWAZOE, U. Alguns aspectos da biologia de *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) e *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) (Pulmonata, Planorbidae). I. Duração do período embrionário. *Revista de Saúde Pública*, 10: 57-64, 1976.

KAWAZOE, U. Alguns aspectos da biologia de *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) e *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) (Pulmonata, Planorbidae). II. Fecundidade e fertilidade. *Revista de Saúde Pública*, 11: 47-64, 1977.

KAWAZOE, U. et al. Competição biológica entre *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) e *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835), em criadouros naturais do município de Ourinhos, SP (Brasil). *Revista de Saúde Pública*, 14: 65-87, 1980.

KLOOS, H. & MCCULLOUGH, F. S. *Plant Molluscicides: a review*. Geneva: WHO/VBC, 1981.

KLOSS, H. et al. The distribuition of *Biomphalaria* spp. in different habitats in relation to physical, biological, water contact and cognitive factors in a rural área in Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96, supl.: 57-66, 2001.

LIE, K. J. Survival of *Schistosoma mansoni* and other trematode larvae in the *Biomphalaria glabrata*. A discussion of the interference theory. *Tropical And Geographical Medicine*, 34: 111-122, 1982.

LIE, K. J. et al. Biological control by trematode antagonism. I. A successful field trial to control *Schistosoma spindale* in Northeast Thailand. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 5: 46-59, 1974.

MACDONALD, G. The dynamics of helminth infections with special reference to schistosomes. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 59: 489-506, 1965.

MACHADO, P. A. & ABREU, L. G. S. A ocorrência de furcocercárias em planorbídeos capturados no município de Campinas. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 15: 235-240, 1955.

MACHADO, P. A.; GUERRA, J. C. & ABREU, L. G. S. Planorbídeos no município de Campinas. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 15: 168-172, 1955.

MALDONADO JR., A. et al. Changes on *Schistosoma mansoni* (Digenea: Schistosomatidae) worm load in *Nectomys squamipes* (Rodentia: Sigmodontinae) concurrently infected with *Echinostoma paraensei* (Digenea: Echinostomatidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96, supl.: 193-198, 2001.

MCULLOUGH, F. S. *The Role of Mollusciciding in Schistosomiasis Control*. Geneva: WHO/SCHIST, 1992.

PARAENSE, W. L. Planorbídeos hospedeiros intermediários de *Schistosoma mansoni*. In: CUNHA, A. S. *Esquistossomose Mansônica*. São Paulo: Sarvier, Edusp, 1970.

PARAENSE, W. L. & CORREA, L. R. Self-fertilization in the freshwater snails *Helisoma duryi* and *Helisoma trivolvis*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 83: 405-409, 1988.

PARAENSE, W. L.; FAURAN, P. & COURMES, E. Observations sur la morphologie, la taxonomie, la répartition géographique et les gîtes d'*Australorbis schrammi*. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 57: 1.236-1.254, 1964.

PAULINYI, H. M. & PAULINI, E. Observações de laboratório sobre o controle biológico de *Biomphalaria glabrata* pela *Pomace*a sp. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 23: 135-149, 1971.

PEREZ, J. G.; VARGAS, M. & MALEK, E. A. Displacement of *Biomphalaria glabrata* by *Thiara granifera* under natural conditions in Dominican Republic. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 86: 341-347, 1991.

PINOTTI, M. et al. Epidemiologia da esquistossomose e variações periódicas das populações malacológicas de Pernambuco. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 2: 183-188, 1960.

POINTIER, J. P. Comparison between two biological control trials of *Biomphalaria glabrata* in a pond in Guadaloupe, French West Indies. *Journal of Medical and Applied Malacology*, 1: 83-95, 1989.

POINTIER, J. P. The introduction of *Melanoides tuberculata* (Mollusca: Thiaridae) to the island of Saint Lucia (West Indies) and its role in the decline of *Biomphalaria glabrata*, the snail intermediate host of *Schistosoma mansoni*. *Acta Tropica*, 54: 13-18, 1993.

POINTIER, J. P. Invading freshwater snails and biological control in Martinique Island. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96, supl.: 67-74, 2001.

POINTIER, J. P. & GUYARD, A. Biological control of the snail intermediate hosts of *Schistosoma mansoni* in Martinique, French West Indies. *Tropical Medicine and Parasitology*, 43: 98-101, 1992.

POINTIER, J. P.; GUYARD, A. & MOSSER, A. Biological control of *Biomphalaria glabrata* and *B. straminea* by the competitor snail *Thiara tuberculata* in a trnsmission site of schistosomiasis in Martinique, French West Indies. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 83: 263-269, 1989.

POINTIER, J. P.; FREDERIC, M. & MAZILLE, V. Biological control of *Biomphalaria glabrata* by *Melanoides tuberculata* on Désirade Island, French West Indies. *Journal of Medical and Applied Malacology*, 3: 49-52, 1991.

POINTIER, J. P.; THÉRON, A. & ESTABLET, D. I. Decline of a sylvatic focus of *Schistosoma mansoni* in Guadaloupe (French West Indies) following the competitive displacement of the snail host *Biomphalaria glabrata* by *Ampullaria glauca*. *Oecologia*, 75: 38-43, 1988.

PRENTICE, M. A. Displacement of *Biomphalaria glabrata* by the snail *Thiara granifera* in field hatitats in St. Lucia, French West Indies. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 77: 57-59, 1983.

RAMOS, A. S.; PIZA, J. T. & FRÓES, E. A importância das inundações na expansão da esquistossomose mansônica. *Revista de Saúde Pública*, 4: 1-5, 1970.

REY, L. *Contribuição para o Conhecimento da Morfologia, Biologia e Ecologia dos Planorbídeos Brasileiros Transmissores da Esquistossomose*. Rio de Janeiro: Serviço Nacional de Educação Sanitária, 1956.

ROSAS, E. Observações ecológicas sobre *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) em áreas do Nordeste. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82, supl. IV: 311-314, 1987.

SANTANA, J. V.; MAGALHÃES, L. A. & RANGEL, H. A. Seleção de linhagens de *Biomphalaria tenagophila* e *Biomphalaria glabrata* visando maior suscetibilidade ao *Schistosoma mansoni*. *Revista de Saúde Pública*, 12: 67-77, 1978.

SILVA, C. L. P. A. C.; SOARES, M. S. & BARRETO, M. G. M. Occurrence of *Biomphalaria tenagophila* and disapparance of *Biomphalaria straminea* in Paracambi, RJ, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92: 37-38, 1997.

SOUZA, C. P. & LIMA, L. C. *Moluscos de Interesse Parasitológico do Brasil*. Belo Horizonte: Fundação Oswaldo Cruz, 1990. (Série Esquistossomose, 1)

TELES, H. M. S. Aspectos ecológicos de *Biomphalaria* Preston, 1910 (Basommatophora, Planorbidae) no Estado de São Paulo, Brasil. I. Sintopia. *Ciência e Cultura*, 40: 374-379, 1988.

TELES, H. M. S. Distribuição de *Biomphalaria tenagophila* e *B. occidentalis* no Estado de São Paulo (Brasil). *Revista de Saúde Pública*, 23: 244-253, 1989.

TELES, H. M. S. Situação do controle da esquistossomose em São Paulo. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 27, supl. IV: 76-79, 1994.

TELES, H. M. S. Distribuição geográfica das espécies dos caramujos transmissores de *Schistosoma mansoni* no Estado de São Paulo. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 38: 426-432, 2005.

TELES, H. M. S. & MARQUES, C. C. A. Estivação de *Biomphalaria tenagophila* (Pulmonata, Planorbidae). *Revista de Saúde Pública*, 23: 76-78, 1989.

TELES, H. M. S. et al. Schistosomiasis mansoni in Bananal (State of São Paulo, Brazil). II. Intermediate hosts. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97, supl I: 37-41, 2002.

THOMAS, J. D. A holistic view of schistosomiasis and snail control. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82, supl. IV: 183-192, 1987.

VASCONCELLOS, M. C. et al. Molluscicidal activity of crown of christ (*Euphorbia spendens* var. *hislopii*) (Euphorbiaceae) latex submitted to pH variation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 46: 415-420, 2003.

WEINZETTL, M. & JURBERG, P. Biological control of *Biomphalaria tenagophila* (Mollusca, Planorbidae), a schistosomiasis vector, using the fish *Geophagus brasiliensis* (Pisces, Cichlidae) in the laboratory or in a seminatural environment. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 85: 35-38, 1990.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Data Sheet on the Biological Control Agent*. *Thiara granifera* (Lamarck). Geneva: WHO/VBC, 1981.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Data Sheet on the Biological Control Agent*. *Marisa cornuarietis* (Linn.). WHO/VBC/82.837, 1982.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Data sheet on* Helisoma *spp. As biological control agents*. Geneva: WHO/VBC, 1984a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Report of an Informal Consultation on Research on the Biological Control of Snail Intermediate Hosts. Geneva: TDR/BCV-SCH/SIH, 1984b.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *The control of schistosomiais*. Geneva: WHO, 1993. (Tecnical Report Series, 830)

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Report of the WHO Informal Consultation on Schistosomiasis in Low Transmission Areas: control strategies and criteria for elimination*. Geneva: WHO/CDS/CPE/SIP, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Report of the WHO Informal Consultation on Schistosomiasis in Low Transmission Areas: control strategies and criteria for elimination. WHO/CDS/CPE/SIP, 2001.

15 *Biomphalaria* e *Schistosoma mansoni*: papel do sistema interno de defesa do molusco na susceptibilidade ao parasito

Deborah A. Negrão-Corrêa
Paulo Marcos Zech Coelho
Zilton A. Andrade
Raquel Lopes Martins-Souza
Cintia Aparecida de Jesus Pereira

Esporocisto primário de *Schistosoma mansoni*, incubado com hemolinfa total de *Biomphalaria tenagophila*, da linhagem Taim. Observar a deposição de hemócitos e deformação do tegumento do esporocisto.

Apesar da grande variedade e complexidade observada no desenvolvimento de trematódeos digenéicos, a maioria utiliza moluscos gastrópodas como primeiro hospedeiro invertebrado. Uma característica que marca a interação molusco-Digenea é o elevado grau de especificidade; tem sido freqüentemente relatado que um número restrito de espécies, ou mesmo linhagens geográficas, de *Biomphalaria* são susceptíveis a uma determinada cepa de *Schistosoma mansoni*. Um dos fatores que influencia na susceptibilidade de *Biomphalaria* à infecção por *S. mansoni* é a capacidade que o sistema interno de defesa deste hospedeiro tem de destruir o parasito. O sistema interno de defesa de *Biomphalaria sp* ainda não é completamente conhecido; sabe-se que é composto por elementos celulares, denominados hemócitos, e componentes solúveis, os quais poderiam diretamente afetar as larvas ou atuar no reconhecimento do parasito e ativação dos hemócitos. Desta maneira, acredita-se que, logo após a penetração do miracídio, hemócitos circulantes são atraídos para o sítio da infecção e podem destruir o miracídio ou encapsular o esporocisto primário. As lectinas solúveis ou expressas na membrana dos hemócitos provavelmente participam no mecanismo de reconhecimento do esporocisto, sendo possível que a rapidez e intensidade da reação antiparasitária variem em diferentes linhagens de hospedeiro. Alguns esporocistos encapsulados podem ser destruídos por lesões tegumentares e/ou pela citotoxicidade decorrentes da ativação dos hemócitos. O nível de susceptibilidade do molusco tem sido atribuído à capacidade do hemócito de envolver e destruir o parasito, o que será foco deste capítulo.

ASPECTOS GERAIS DA INTERAÇÃO ENTRE *Schistosoma mansoni* E *Biomphalaria*

A infecção provocada por *S. mansoni* é uma doença endêmica no Brasil, onde se estima que cerca de sete milhões de pessoas estejam infectadas. As áreas de maior prevalência da doença no país situam-se em alguns estados da Região Nordeste, principalmente Sergipe, Alagoas, Pernambuco e Bahia, o norte do estado de Minas Gerais e Espírito Santo, além de alguns focos isolados no Paraná, São Paulo e Rio de Janeiro (Katz & Peixoto, 2000). A manutenção das áreas de transmissão desta parasitose no território brasileiro está associada às condições precárias de saneamento básico, aliada à presença do hospedeiro intermediário, caramujos do gênero *Biomphalaria*. Conseqüentemente, o sucesso do desenvolvimento de *S. mansoni* em seus hospedeiros dependerá da capacidade do parasito em:

- encontrar e penetrar em hospedeiros compatíveis;
- adaptar-se à condição de estresse, como variação de fatores fisiológicos (osmolaridade, pH, concentração de O_2 e CO_2 e concentração de glicose) aos quais os diferentes estágios de desenvolvimento do parasito são expostos durante a passagem do hospedeiro definitivo para o meio aquático e daí para o hospedeiro intermediário;
- evadir de possíveis mecanismos de destruição do sistema de defesa dos hospedeiros;
- obter nutrientes adequados para o seu crescimento e reprodução. Devido à relevância da esquistossomose para a saúde humana e pelo grande número de grupos de pesquisadores que atuam nesta área, muitos progressos foram obtidos no conhecimento da associação entre *S. mansoni* e o seu hospedeiro definitivo; entretanto, a interação entre o parasito e seu hospedeiro intermediário ainda apresenta muitos aspectos desconhecidos.

S. mansoni infecta *Biomphalaria* por meio de penetração ativa de larvas ciliadas do parasito, denominadas miracídios, em qualquer ponto das partes expostas do caramujo, freqüentemente a base das antenas e massa cefalopodal. O desenvolvimento intramolusco do parasito já foi detalhadamente discutido no capítulo 4; entretanto, é importante ressaltar que inicialmente o miracídio precisa contatar e atravessar o epitélio do hospedeiro. No processo de penetração, o parasito sofre mudanças morfológicas e fisiológicas, transformando-se em esporocisto primário que permanecerá no tecido fibromuscular da região cefalopodal do hospedeiro, próximo ao local de penetração. Dos esporocistos primários se originam, entre o 14º e o 21º dia após a penetração do miracídio, os esporocistos secundários, os quais migram da musculatura cefalopodal para as glândulas digestivas ou para o hepatopâncreas do molusco, onde sofrem profundas modificações anatômicas e suas células germinativas podem originar as cercárias (Maldonado & Acosta-Matienzo; 1947; Pan, 1965; Pereira et al., 1984). Segundo Jourdane, Theron & Combes (1980), alguns esporocistos secundários também podem originar outra geração de esporocistos, que poderá gerar cercárias ou novos esporocistos, garantindo a prolongada eliminação de cercárias observada em caramujos infectados.

Apesar da grande diversidade observada no ciclo de digenéicos, todas as espécies utilizam um hospedeiro molusco para parte do seu desenvolvimento larval, na maioria das vezes um molusco Gastropoda, suportando a hipótese de que o hospedeiro ancestral dos digenéicos era um molusco. Segundo Adema & Loker (1997), a evolução dos digenéicos a partir de um hospedeiro molusco justificaria o elevado grau de especificidade desta associação; para exemplificar, os autores mencionam que as diversas espécies de Schistosomatidae conhecidas utilizam 117 gêneros de vertebrados como hospedeiros definitivos e somente 24 gêneros de moluscos como hospedeiros intermediários (Adema & Loker, 1997). Especificamente no caso

de *S. mansoni*, a fase sexuada pode ocorrer em algumas espécies de mamíferos, inclusive o homem, seu principal hospedeiro definitivo, enquanto a evolução do esporocisto para cercária, fase de intensa reprodução assexuada, necessariamente se restringe a um número reduzido de espécies do gênero *Biomphalaria.*

No Brasil, das dez espécies de moluscos do gênero *Biomphalaria* descritas, apenas três foram encontradas naturalmente infectadas por *S. mansoni*: *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea* (Paraense, 2001). Duas outras espécies, *B. amazonica* e *B. peregrina*, são susceptíveis à infecção experimental por *S. mansoni*, entretanto não existem relatos de infecção natural daquelas espécies de *Biomphalaria* pelo parasito (Paraense, 1970; Correa & Paraense, 1971; Paraense & Correa, 1973). Em um estudo comparativo utilizando-se *B. glabrata* e *B. tenagophila* originárias de Belo Horizonte (MG) e *B. straminea* da cidade de Paracatu (MG), ficou demonstrada a grande diferença nos níveis de susceptibilidade à infecção experimental por uma cepa de *S. mansoni* originada do estado de Alagoas. Neste estudo, os autores obtiveram os seguintes índices de infecção em *B. glabrata* – 75,3%; *B. tenagophila* – 32,6%; e *B. straminea* – 11,3% (Souza et al., 1997). Além da diferença de susceptibilidade observada entre as espécies de *Biomphalaria* compatíveis com o parasito, algumas linhagens do parasito podem ser restritas a uma única espécie de *Biomphalaria*, ou até mesmo a uma determinada linhagem geográfica dessa espécie de molusco. Analisando populações de *B. glabrata* de diferentes localidades do Brasil, Paraense & Corrêa (1963) relataram que as diferentes linhagens geográficas do molusco apresentavam nível de suscetibilidade de 0% a 100% quando infectadas com uma única cepa de *S. mansoni*, isolada de paciente em Belo Horizonte. Em se tratando de *B. tenagophila,* uma das linhagens geográficas desta espécie de caramujo, isolada da Reserva Biológica do Taim, Rio Grande do Sul, apresentava-se completamente resistente ao desenvolvimento de todos os isolados de *S. mansoni* testados. O caráter de resistência desta linhagem de *B. tenagophila* tem sido mantido após mais de trinta anos de manutenção deste molusco em condições laboratoriais (Santos et al., 1979; Martins-Souza et al., 2003) e tem sido explorado nos estudos de possíveis mecanismos de destruição do parasito discutidos nesta revisão.

A compatibilidade entre *S. mansoni* e seu hospedeiro intermediário será influenciada por fatores comportamentais e fisiológicos do molusco. Uma vez encontrado um hospedeiro compatível, o nível de susceptibilidade de *Biomphalaria* a *S. mansoni* pode ser determinado por diferenças genéticas dos moluscos, bem como pela constituição genética de *Schistosoma* (Basch, 1976). Newton (1953) demonstrou, pela primeira vez, que a susceptibilidade dos moluscos *B. glabrata* a *S. mansoni* é condicionada a fatores genéticos. Posteriormente, os estudos realizados por Richards (1976a, 1976b, 1977; Richards & Shade et al., 1987) confirmaram que o caráter de resistência, adquirido na maturidade, é determinado por um único gene dominante, com herança mendeliana. A determinação genética da susceptibilidade de *Biomphalaria* à infecção por *S. mansoni* será detalhadamente discutida no capítulo 16.

Um dos elementos que influenciam a susceptibilidade e que pode ser geneticamente determinado é a atividade do sistema de defesa interna dos caramujos. Dessa forma, a composição celular da hemolinfa e a capacidade de ativar estas células durante a infecção poderão definir a sobrevivência do parasito no interior do hospedeiro. Estes aspectos serão discutidos na seqüência deste capítulo.

SISTEMA DE DEFESA INTERNO DO MOLUSCO

Dos cerca de trinta filos de animais formalmente reconhecidos, somente o filo Cordata não é composto exclusivamente por animais invertebrados. Portanto, da mesma maneira que os vertebrados, os invertebrados

precisam responder a todo tipo de agressão, especialmente as produzidas por agentes infecciosos que coabitam seu ambiente. Desta forma, o sistema interno de defesa dos invertebrados é necessariamente capaz de reconhecer e destruir agentes infecciosos, apesar de não apresentar elementos capazes de gerar a diversidade de reconhecimento observada durante a resposta imunológica dos vertebrados (van der Knaap & Loker, 1990; Loker et al., 2004). Estudos recentes têm demonstrado muitas similaridades entre a resposta de defesa inata de vertebrados e o sistema interno de defesa dos invertebrados (Hoffmann, 2003; Hoffmann et al., 1999), sendo identificados, em diferentes organismos, peptídeos líticos, moléculas de reconhecimento de padrões moleculares altamente conservados em determinados grupos de patógenos, células fagocitárias e produção de metabólitos de oxigênio e nitrogênio altamente tóxicos. Embora muitas semelhanças tenham sido identificadas no sistema de defesa de diversas formas de invertebrados, é importante ressaltar que estudos genômicos têm indicado mecanismos de defesa bastante diversos em grupos de invertebrados filogeneticamente associados, mas com hábito alimentar e habitat muito diverso (Loker et al., 2004).

O sistema de defesa interna dos caramujos é composto por elementos celulares, constituídos pelos hemócitos ou amebócitos, e por fatores solúveis presentes na hemolinfa. Os hemócitos podem estar livres, circulantes na hemolinfa ou fixos nos tecidos. A hemolinfa dos planorbídeos circula em um sistema semi-aberto, impulsionada pelo coração, de onde parte a artéria aorta, que se ramifica para diversos tecidos, drenando nos seios venosos e retornando ao coração pelas veias pulmonar e renal, após ser reoxigenada na parede pulmonar. O coração, envolto pela membrana do pericárdio, é dividido em duas câmaras, a aurícula, que recebe hemolinfa da cavidade pulmonar, e o ventrículo, que impele a hemolinfa através da aorta. A aorta se divide em duas artérias: a artéria visceral, a qual irriga a parte posterior do corpo do caramujo, incluindo os sistemas digestivo e genital, e a artéria cefálica, que atinge toda a região cefalopodal. As artérias se esvaziam nos espaços pseudovasculares dos tecidos, acumulando hemolinfa em três seios venosos: cefalopodal, visceral e sub-renal, retornando para o coração após circularem pelo rim e pelo pulmão (Baker, 1945; Paraense, 1970). Os hemócitos podem ser produzidos por vários tecidos hematopoéticos. Em *B. glabrata* e *Bulinus* sp foi identificada uma região bem definida localizada entre o pericárdio e o epitélio posterior da cavidade do manto, que provavelmente é o principal local de formação de hemócitos, também designado de *amebocyte producing organ* (APO). Em animais não estimulados, esta região se caracteriza como uma estrutura pequena, pouco espessa e conspícua, sendo formada por células arredondadas e alongadas, que apresentam citoplasma basófilo e núcleo oval ou alongado (Lie, Heyneman & Jeong, 1976). Observações recentes (Sullivan, Pikios & Alonzo, 2004) mostraram um aumento de mitoses nas células daquela região, entre 24 e 72 horas após inoculação de antígenos de miracídios ou cercárias de *S. mansoni*. A observação de células em processo de mitose foi muito maior em linhagens resistentes de *B. glabrata* que em susceptíveis. A porção sacular dos túbulos renais, margeando o pericárdio e, ocasionalmente, a região dorsal do reto, também é capaz de produzir hemócitos. Contudo, o número de mitoses e a população de células nestes sítios são menores do que no APO. A transferência do pericárdio de *B. glabrata* resistente à infecção por *S. mansoni* (linhagem 13-16-R1) para a linhagem susceptível NIH resultou em redução de esporocistos íntegros no tecido e na diminuição na produção de cercárias (Sullivan & Spence, 1994). A redução da susceptibilidade somente foi observada quando o pericárdio implantado era de doador de linhagem resistente e havia sido previamente exposto a miracídios de *S. mansoni*. A observação histológica destes implantes de doadores resistentes revelou a presença de hemócitos em processo de mitose (Sullivan, Spence & Nunez, 1995). Outras regiões retiradas de *B. glabrata* resistente, como manto, coração, rim, glândulas digestivas, glândula

do albúmen e genitais, não produziram alterações na susceptibilidade de *B. glabrata* NIH à infecção por *S. mansoni* (Sullivan & Spence, 1999). A importância de mecanismos mediados por hemócitos provenientes da região do pericárdio na resistência ao parasito foi ainda mais marcante em *B. tenagophila*. Os caramujos *B. tenagophila* susceptíveis a *S. mansoni* que receberam o transplante do órgão hematopoético da linhagem resistente do Taim e nos quais foi possível comprovar, por marcador genético, o sucesso do transplante não se infectaram com o parasito.

Dessa maneira, a maioria dos autores acredita que os hemócitos são os principais efetores do sistema de defesa dos moluscos, participando da fagocitose de partículas (como, por exemplo, bactérias e protozoários) e da encapsulação de invasores maiores, como é o caso das larvas de helmintos (Loker, Bayne & Yui, 1986; Adema & Loker, 1997). Além disso, os hemócitos produzem fatores solúveis, que são lançados na hemolinfa ou estão expressos em sua membrana, que participam da ativação dos próprios hemócitos e na destruição de agentes patogênicos.

CARACTERIZAÇÃO DE HEMÓCITOS CIRCULANTES

Os hemócitos circulantes de diferentes espécies de moluscos apresentam heterogeneidade morfológica e funcional. Adema, Harris & van Deutekom-Mulder (1992), em estudo comparativo de hemócitos de seis espécies de Gastropoda: *Achatina achatina, Achatina fulica, Biomphalaria glabrata, Bulinus natalensis, Helix aspera* e *Lymnaea estagnalis*, relatam que os hemócitos das diferentes espécies se assemelham morfologicamente, sendo observadas apenas diferenças no tamanho dos hemócitos recolhidos de caramujos terrestres e aquáticos. Também foi relatado que os hemócitos de todas as espécies foram capazes de gerar superóxidos após estimulação fagocitária; entretanto, a atividade de peroxidase não foi detectada, nas condições experimentais, em hemócitos de *A. fulica* e *B. glabrata*.

Segundo Sminia (1981), apesar de vários estudos caracterizarem a função e estrutura das células circulantes em Gastropoda, ainda não existe concordância quanto aos tipos celulares presentes na hemolinfa daqueles animais. O autor considera a população de hemócitos circulantes de Gastropoda uma população composta de um único tipo celular; portanto, as diferenças morfológicas e estruturais observadas corresponderiam a diferentes estágios de maturação celular, e estas diferenças no estágio de desenvolvimento dos hemócitos acarretariam variação em sua capacidade funcional. As células jovens, morfologicamente caracterizadas como células pequenas e arredondadas, apresentam uma grande atividade mitótica e uma baixa atividade fagocitária, enquanto as células maduras, maiores e com prolongamentos citoplasmáticos, têm pouca atividade mitótica, mas alta atividade fagocitária.

A hipótese de existência de várias subpopulações de hemócitos circulantes na hemolinfa de Gastropoda tem sido aceita por muitos autores. Em geral, esses autores se baseiam nas características morfológicas e ultra-estruturais, nas expressões diferenciais de determinantes antigênicos e no conteúdo enzimático destas células para separar as subpopulações. Segundo Ottaviani (1992), a população de hemócitos circulantes da maioria dos moluscos gastrópodes é constituída por dois tipos celulares: os hemócitos estrelados, que emitem pseudópodes, e os hemócitos arredondados. Em *Planorbarius corneous*, os hemócitos estrelados são células que apresentam atividade fagocitária, aderem ao vidro, ligam-se à concanavalina A e são reconhecidas por anticorpos anticitocinas pró-inflamatórias, como interleucina-1 (IL-1), interleucina-2 (IL-2), interleucina-6 (IL-6) e TNF-α. Por outro lado, os hemócitos arredondados não possuem atividade

fagocitária, não aderem ao vidro e se proliferam em presença de fito-hemaglutinina (Ottaviani, 1992; Ottaviani, Franchini & Franceschi, 1993).

Em hemolinfa de *B. glabrata*, a maioria dos autores (Harris, 1975; Yoshino, 1976; Lie, Jeong & Heyneman, 1987; Barraco, Steil & Gargioni, 1993; Borges & Andrade, 2003) também distingue duas subpopulações de hemócitos circulantes: os granulócitos e os hialinócitos. Os granulócitos são células que medem aproximadamente de 7 a 11 μm de diâmetro, apresentam um núcleo excêntrico, esférico ou reniforme, com 5 μm de diâmetro, rico em grumos de cromatina fortemente condensada (heterocromatina) e um nucléolo proeminente. O citoplasma granular, protegido por uma membrana bem definida, mostra uma delimitação acentuada entre o endoplasma, que é rico em organelas, e o ectoplasma homogêneo. Nas organelas, é relativamente freqüente a presença de lisossomos primários, como estruturas arredondadas e eletrodensas (Figura 1). Estas células emitem ainda numerosos prolongamentos citoplasmáticos, delgados e longos (filopódios) (Figura 2). Tais estruturas se entrelaçam formando uma rede ramificada preenchida por um material amorfo, sob a forma de grumos com fraca eletrodensidade, que ficam aparentemente aprisionados entre os filopódios. Nos pontos entre os filopódios ou entre estes e as fibras da matriz extracelular não há evidências de estruturas conectoras especializadas, tais como zonas aderentes. Bayne, Buckley & Dewan (1980a) consideram que os granulócitos de Gastropoda, em geral, são células funcionalmente semelhantes aos macrófagos de mamíferos. Posteriormente, foi verificado que estas células, de maneira similar ao relatado com macrófagos de mamíferos, também são resistentes às altas doses de radiação gama (Bezerra et al., 2003). Os hialinócitos são usualmente menores, medindo de 4 μm a 8 μm de diâmetro, apresentam contorno circular quando em contato com vidro, citoplasma contendo raras organelas e pouco ou nenhum corpo semelhante a lisossomo e ausência de pseudópodes extensos. Barraco, Steil & Gargioni (1993) mostraram que hemócitos circulantes de *B. glabrata* e *B. tenagophila* apresentam semelhanças quantitativas e morfológicas tanto na subpopulação de granulócitos quanto na de hialinócitos.

Figura 1 – Hemócito tecidual mostrando um núcleo grande excêntrico, rico em grumos de cromatina fortemente condensada (heterocromatina). Na região perinuclear aparecem corpos eletrodensos (lisossomos primários) e dois fagolisossomos. Microscopia eletrônica, X 12.000

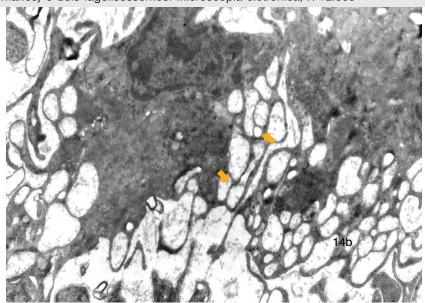
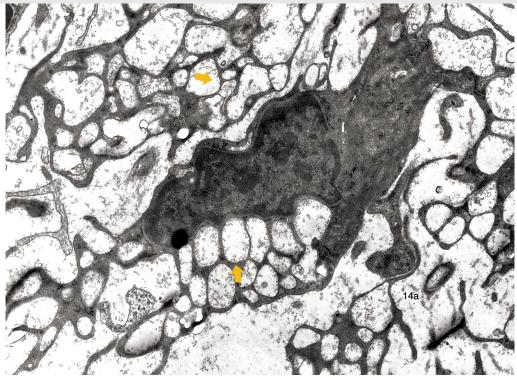



Figura 2 – Aspecto geral de um hemócito tecidual mostrando os numerosos prolongamentos citoplasmáticos (filopódios) longos e finos que formam um emaranhado no interstício do qual aparece um estroma abundante e amorfo (setas). Microscopia eletrônica, X 3.000

Tendo como base a atividade fagocitária dos granulócitos, é possível diferenciar os hemócitos circulantes de *Biomphalaria* pela capacidade de incorporar o corante vermelho neutro (Bezerra et al., 1997). Utilizando esta metodologia, foi possível distinguir e quantificar duas populações de hemócitos na hemolinfa de *B. grablata* ou *B. tenagophila*, sendo estimado que cerca de 80% dos hemócitos circulantes apresentam vesículas avermelhadas no citoplasma após a incubação com vermelho neutro, caracterizando a população de granulócitos, enquanto o restante das células, os hialinócitos, não incorporam o corante (Bezerra et al., 1997; Martins-Souza et al., 2003).

Granath & Yoshino (1983) analisaram a distribuição e abundância de enzimas lisossomais como fosfatase ácida, esterase e peroxidase em hemócitos de *B. glabrata.* Neste estudo, os resultados mostraram que, de maneira geral, os hemócitos aderentes ao vidro, ou seja, os granulócitos, isolados de linhagens resistentes e susceptíveis a *S. mansoni*, apresentam reatividade para fosfatase ácida, esterase e peroxidase, testadas isoladamente, e para fosfatase ácida e esterase testadas simultaneamente. Porém, na linhagem resistente, a quantidade de hemócitos contendo grânulos de fosfatase ácida ou esterase não específica foi significativamente maior do que a quantidade de hemócitos com grânulos de peroxidase. As subpopulações de hemócitos das linhagens susceptíveis e resistentes, determinadas por estes marcadores enzimáticos, respondem diferentemente à infecção por *S. mansoni.*

Mais recentemente, Johnston &Yoshino (2001) utilizaram citometria de fluxo para analisar os hemócitos circulantes da hemolinfa de *B. glabrata* quanto ao tamanho e granulosidade, e confirmaram a presença

de duas subpopulações celulares. Em geral, os hemócitos de uma das subpopulações foram caracterizados como células arredondadas e pequenas, medindo entre 5 μm e 6 μm de diâmetro, com granulosidade reduzida, enquanto o outro tipo celular é constituído por hemócitos grandes (entre 6,5 μm e 8 μm de diâmetro) mais granulosos. Os hemócitos grandes aderem fortemente a superfícies com uma extensa emissão de filopódios. Hemócitos de ambas as populações celulares foram marcados por conjugados fluorescentes de proteínas excretadas-secretadas de *S. mansoni* (ESPs), sendo que a marcação foi mais intensa na subpopulação de hemócitos pequenos quando comparada com a dos hemócitos grandes. A ligação de antígenos do parasito (ESPs) à superfície dos hemócitos foi inibida pela incubação com vários açúcares, sugerindo que este reconhecimento pode ser mediado por lectinas. Experimentos realizados por Martins-Souza (2005) também indicam a presença de duas populações de hemócitos, separadas quanto ao tamanho e granulosidade, durante análise da hemolinfa de *B. glabrata* e *B. tenagophila* por citometria de fluxo. Entretanto, a proporção de hemócitos de cada subpopulação e as alterações induzidas pela infecção com *S. mansoni* variam significativamente entre *B. glabrata* e *B. tenagophila*.

Davids & Yoshino (1998) demonstraram que o espalhamento e emissão de pseudópodes dos hemócitos grandes, que aderem à superfície de vidro, foram bloqueados pelo tratamento com o tetrapeptídeo *arg-gly-asp-ser* (RGDS), um inibidor de adesão mediada por integrinas. Em hemócitos recolhidos de linhagens de *B. glabrata* resistentes a *S. mansoni* a concentração de RGDS necessária à inibição foi significativamente maior em relação à concentração necessária para inibir a adesão de hemócitos de linhagens susceptíveis, sendo provável a participação desta molécula no processo de encapsulação do parasito e ativação do hemócito.

Apesar das diferenças morfológicas e estruturais relatadas em hemócitos, alguns autores acreditam que os hialinócitos sejam células precursoras dos granulócitos (Sminia, 1981; Amen et al., 1991), enquanto outros sugerem que a subpopulação designada de granulócitos é muito heterogênea e, provavelmente, não representa um único tipo celular. A heterogeneidade dos granulócitos foi demonstrada por meio de inoculação de partículas de sílica em *B. tenagophila* (Martins-Souza et al., 2003). De maneira semelhante ao relatado com macrófagos de mamíferos, hemócitos que englobam partículas de sílica são destruídos, resultando em uma diminuição do número de granulócitos circulantes, que permanece significativamente reduzido por um período de quatro dias. Entretanto, a inoculação de sílica, mesmo em altas doses, não afeta todos os granulócitos, reforçando a heterogeneidade desta população celular. Por outro lado, o restabelecimento da população de granulócitos é precedido por um aumento considerável na população de hialinócitos, que chega a representar cerca de 50% da população de hemócitos totais, sugerindo que estas células possam estar envolvidas na reposição dos granulócitos.

Joky, Matricon-Gondran & Benex (1983) foram capazes de diferenciar quatro subtipos celulares na população de granulócitos, mediante associação de diferenças morfológicas com a expressão de receptores de lectinas na superfície celular. Essa caracterização foi feita principalmente em hemócitos jovens, recolhidos próximo ao órgão produtor de hemócitos. Segundo aqueles autores, os granulócitos do tipo 1 são células pequenas, com uma superfície irregular, bem como um centro celular bem definido com mitocôndrias e corpos multivesiculares e um retículo endoplasmático extenso ao redor do núcleo. Granulócitos do tipo 2 também são células pequenas com um núcleo em forma de rim. Em seu citoplasma foram observados dictiossomas e corpos multivesiculares, além de um ectoplasma de onde se origina uma filopodia radial. Granulócitos do tipo 3 são fusiformes, grandes, com longos e grossos pseudópodes

em seus pólos; o citoplasma é rico em organelas, incluindo vários dictiossomas, retículo endoplasmático, lisossomas e mitocôndrias, além de pequenos pacotes de glicogênio. O quarto tipo celular, de granulócitos do tipo 4, é composto por células assimétricas, com extensos pseudópodes e filópodes, citoplasma com vacúolos superficiais, poucos dictiossomas, mitocôndrias e lisossomas ao redor do núcleo, sendo observado na periferia uma rica rede de retículos endoplasmáticos e um grande depósito de partículas de glicogênio. Os autores também relatam que granulócitos dos tipos 3 e 4 apresentam receptores para ferro coloidal e receptores para Wheat Germ Agglutinin (WGA), sendo que estes receptores são marcados em menor intensidade no granulócito do tipo 3, o qual também se liga a Con-A (concanavalina A).

Apesar de a maioria dos autores aceitarem que os hemócitos circulantes de *Biomphalaria* são compostos por granulócitos e hialinócitos, Matricon-Gondran & Letocart (1999a, 1999b) discordam da designação de granulócitos, pois estas células não apresentam grânulos específicos. As autoras realizaram um detalhado estudo ultra-estrutural e enzimático de hemócitos circulantes e hemócitos retidos nos seios venosos, cavidade cardíaca e órgão formador de hemócito, concluindo que os hemócitos dos diferentes compartimentos podem ser separados em três subpopulações: hemócitos grandes, hemócitos de tamanho médio e os pequenos hemócitos. Os hemócitos grandes medem de 8 µm a 12 µm, têm uma proporção núcleo-citoplasmática pequena e apresentam-se morfologicamente assimétricos e com uma extensão citoplasmática proeminente. Em seu citoplasma são observados centríolos, dictiossomas e grânulos secretórios densos. Estas células também apresentam numerosas mitocôndrias com uma matriz densa e grande agregado de partículas de glicogênio. Ao redor do núcleo pode-se observar o retículo endoplasmático rugoso. Os hemócitos de tamanho médio, com cerca de 8 µm de diâmetro, apresentam uma proporção núcleo-citoplasmática grande, são simétricos e têm um citoplasma homogêneo, com poucas organelas ao redor do núcleo. Tais células apresentam ainda pouca atividade enzimática. A população de pequenos hemócitos é heterogênea, medindo entre 5 µm e 6 µm de diâmetro, com uma proporção núcleo-citoplasmática alta. Estas células pequenas são consideradas pelos autores como hemócitos maduros. Apresentam citoplasma escasso, com poucos grânulos secretórios e densos, mas rico em organelas. Pequenos dictiossomas apresentam atividade de fosfatase ácida. A proporção de cada tipo celular em relação à população total não pode ser determinada, entretanto nota-se que os hemócitos grandes e os de tamanho médio são os mais abundantes e que os pequenos hemócitos existem em menor número. As diferenças ultra-estruturais destes tipos celulares refletem na capacidade destas células de fagocitarem diferentes partículas, como ferritina, zymozan, bactérias vivas e diferentes tamanhos de látex (Matricon-Gondran, 1999b). Além dos hemócitos, os autores descrevem a presença de células fagocitárias fixas nos tecidos conjuntivos, que diferem ultra-estruturalmente dos hemócitos, apresentando maior capacidade fagocitária e uma rede de vesículas lisossomais bem desenvolvidas.

A definição fenotípica e funcional dos hemócitos de *Biomphalaria* é parte fundamental da compreensão da participação destas células, ou de alguma subpopulação celular, no mecanismo de destruição de larvas de *S. mansoni* ou outros parasitos.

Fatores Solúveis da Hemolinfa

Componentes solúveis da hemolinfa de moluscos podem interagir com agentes patogênicos diretamente, mediante a produção de substâncias tóxicas ou peptídeos líticos, ou indiretamente, por intermédio de

moléculas mediadoras do reconhecimento do patógeno ou de ativadores de hemócitos. Peptídeos com função antimicrobiana, denominados mytilinas, são produzidos e armazenados em grânulos de hemócitos, bem como são secretados na hemolinfa de *Mytilus galloprovincialis* (Mitta et al., 2000). Apesar da participação destes peptídeos na destruição de infecções bacterianas, não existem evidências de sua participação na interação do molusco com parasitos metazoários. Sapp & Loker (2000) demonstraram que na maioria das interações incompatíveis entre digenéicos e gastrópodes, fatores presentes na hemolinfa livre de células do gastrópode, não relacionados à osmolaridade, matam o esporocisto após cerca de seis horas de incubação, mas a natureza destes fatores ainda não foi estabelecida.

A importância da fração solúvel da hemolinfa de *Biomphalaria* no mecanismo de destruição de esporocistos de *S. mansoni* foi confirmada *in vivo* por intermédio de estudos de transferência desta fração, obtida de linhagens de caramujos resistentes, para caramujos susceptíveis ao parasito. Granath & Yoshino (1984) relataram que a transferência da fração solúvel da hemolinfa obtida de linhagens resistentes de *B. glabrata* para linhagens susceptíveis resultou em uma redução da taxa de infecção por *S. mansoni* nos receptores. Resultados similares foram obtidos por Pereira (2005) quando foi feita a transferência, *in vivo*, de fatores solúveis da hemolinfa de *B. tenagophila* da linhagem Taim (completamente resistente ao parasito) para a linhagem Cabo Frio, que tem se mostrado susceptível à infecção pelo parasito. Os resultados mostraram uma redução da susceptibilidade à infecção por *S. mansoni* nos caramujos que receberam hemolinfa da linhagem resistente do Taim. Verificou-se redução significativa no número de caramujos infectados e na quantidade de esporocistos e cercárias recuperados nos caramujos infectados e inoculados com hemolinfa do Taim. Bayne, Buckley & Dewan (1980b) foram os primeiros a desenvolver métodos *in vitro* para avaliar o efeito da hemolinfa de *B. glabrata* sobre o esporocisto primário de *S. mansoni* transformado axenicamente. Esta abordagem experimental tem facilitado o estudo dos mecanismos de resistência na associação parasito-hospedeiro. Os autores mostraram que a hemolinfa livre de células, obtida de linhagens suscetíveis e resistentes de *B. glabrata*, são incapazes de alterar visivelmente a morfologia do esporocisto *in vitro*, o mesmo acontecendo com hemolinfa contendo hemócitos de linhagens suscetíveis. Entretanto, hemócitos de linhagens suscetíveis associados a fatores solúveis da hemolinfa de linhagens resistentes de *B. glabrata* adquirem a capacidade de destruir os esporocistos de *S. mansoni*. No caso de *B. tenagophila* da linhagem Taim, que destrói completamente larvas de *S. mansoni* nas primeiras horas após a penetração, a hemolinfa centrifugada obtida destes caramujos, ou seja, a fração acelular, é capaz de matar cerca de 20% dos esporocistos de *S. mansoni*, *in vitro*, mesmo na ausência de hemócitos (Martins-Souza, 1999). Utilizando a mesma linhagem resistente de *B. tenagophila,* também foi observado que a depleção parcial de granulócitos, mediante inoculação de sílica *in vivo*, não foi capaz de alterar a resistência da Taim à infecção por *S. mansoni*, apesar de este mesmo tratamento ser responsável pelo aumento do nível de susceptibilidade em *B. tenagophila* da linhagem Cabo Frio (Martins-Souza et al., 2003).

A presença de substâncias na hemolinfa de *B. glabrata* que provocam aglutinação ao redor de esporocistos de *S. mansoni* foi relatada por Loker, Yui & Bayne (1984). Posteriormente, Fryer & Bayne (1996) mostram que as partículas de poliestireno tratadas com fatores solúveis da hemolinfa de linhagens resistentes de *B. glabrata* são significativamente mais fagocitadas por hemócitos de linhagens suscetíveis do que as partículas não tratadas, demonstrando que fatores solúveis da hemolinfa podem participar do mecanismo de reconhecimento e da opsonização de partículas pelos hemócitos.

Johnston & Yoshino (1996) demonstraram que lectinas similares às de *Conavalia ensiformis* (ConA), *Erythrina corallodendrom* (ECA), *Glycine Max* (SBA), *Tetragonolobus purpúreas* (TPA) e *Triticum vulgaris* (WGA) estavam presentes na hemolinfa de *B. glabrata* e eram capazes de se ligar às proteínas presentes na superfície do esporocisto de *S. mansoni.* Nos moluscos, as lectinas são sintetizadas pelos hemócitos e liberadas na hemolinfa, onde imobilizam material particulado por aglutinação, ou são expressas na superfície dos hemócitos circulantes, onde aparentemente funcionam como receptores citofílicos (Fryer & Bayne, 1996; Richards & Renwrantz, 1991). Por outro lado, vários autores têm demonstrado a presença de carboidratos, especialmente glicoproteínas e glicolipídeos, como os principais componentes do tegumento de miracídios e esporocistos de *S. mansoni* (Zelck & Becker, 1990; Uchikawa & Loker, 1991). Johnston & Yoshino (1996) demonstraram que uma grande variedade de glicoproteínas do tegumento de *S. mansoni* pode ser reconhecida por lectinas presentes na fração solúvel da hemolinfa de *B. glabrata*, sendo que alguns autores sugerem que diferenças de susceptibilidade de espécies ou linhagens de *Biomphalaria* à infecção por *S. mansoni* pode estar relacionada a variações quantitativas e/ou qualitativas de determinadas lectinas (Zelck & Becker, 1990). Mais recentemente, um grupo de proteínas, com homologia ao fibrinogênio e com atividade de lectina, foi identificado na hemolinfa de *B. glabrata,* sendo sua expressão aumentada após a infecção do molusco com *Echinostoma paraensei*, outro trematódeo digenéico. Estas proteínas têm a capacidade de precipitar antígenos de excreção/secreção do parasito e os autores sugerem que, além de participarem do reconhecimento, poderiam ser importantes inibidores do mecanismo de evasão do parasito (Adema et al., 1997a, 1997b).

Além das lectinas, outras proteínas, com função homóloga a mediadores celulares já caracterizados em vertebrados, têm sido identificadas na hemolinfa de moluscos e podem estar envolvidas na ativação dos hemócitos durante a infecção por trematódeos digenéicos. Como nos vertebrados, a resposta inflamatória também desempenha um papel importante no sistema interno de defesa dos invertebrados (Ottaviani, Caselgrandi & Franceschi, 1995). Ottaviani, Franchini & Franceschi (1993) relatam a presença de uma variedade de proteínas semelhantes a citocinas pró-inflamatórias de vertebrados, como interleucina-1 alfa (IL-1 α), interleucina-1 beta (IL-1 β), interleucina-2 (IL-2), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF-α), em hemócitos de duas espécies de moluscos (*Planorbarius corneus* e *Viviparus ater*), estando presentes somente nos hemócitos com atividade fagocitária. Moléculas com atividade imunológica, funcional e/ou biológica semelhante a IL-1, também têm sido detectadas ou isoladas na hemolinfa de outros invertebrados, como camarões de água doce (Beck & Habicht, 1986), insetos (Scharrer et al., 1996), mexilhões (Hughes et al., 1991) e tunicados (Beck, O'Brien & Habicht, 1989). A presença de proteínas semelhantes IL-1 em invertebrados tem sido associada à ativação e proliferação celular (Hughes et al., 1991; Raftos et al., 1991, 1992), ao aumento da fagocitose (Burke & Watkins, 1991; Beck et al., 1993) e da produção de superóxidos (Granath Jr., Connors & Tarleton, 1994). Em trabalhos posteriores, Ottaviani, Caselgrandi & Franceschi (1995) relatam uma intensa inter-relação entre proteínas homólogas à citocina e a resposta imune de invertebrados, principalmente moluscos. Segundo os autores, diferentes citocinas (IL-1 α, IL-2 e TNF- α) estimulam significativamente a motilidade, aumentam a atividade fagocitária dos hemócitos e provocam a indução de óxido nítrico sintetase. Estes resultados sugerem que as citocinas podem ser importantes moléculas ancestrais, funcionalmente conservadas, que mantiveram a sua redundância

no modo de ação e a alta promiscuidade dos seus receptores durante a evolução. Apesar das proteínas pró-inflamatórias identificadas em moluscos apresentarem semelhanças funcionais com citocinas de vertebrados, faz-se necessários estudos mais detalhados, para se estabelecer o grau de homologia entre as proteínas de moluscos com citocinas de vertebrados.

Especificamente em *B. glabrata*, Ouwe-Missi-Oukem-Boyer et al. (1994) detectaram a presença de proteína com imunorreatividade semelhante ao TNF-a humano em grânulos citoplasmáticos de alguns hemócitos. Na hemolinfa daqueles caramujos também foi identificada, por *Western Blot*, a presença de uma proteína de 53 kDa imunorreativa a anticorpos anti-TNF-α, a qual sua quantificação, por meio da técnica de Elisa, demonstra que a quantidade da proteína diminui durante a infecção por *S. mansoni*. Apesar da homologia desta molécula com TNF-α humano, seu papel na regulação da resposta funcional e na relação parasito-hospedeiro ainda não foi esclarecido. Uma proteína com semelhança imunológica e funcional à interleucina-1 (IL-1 *like*) também foi identificada em *B. glabrata,* sendo que linhagens resistentes do caramujo apresentam níveis superiores de IL-1 em relação às linhagens susceptíveis e quantidades significativamente mais altas daquela proteína foram mantidas durante a exposição por *S. mansoni* em linhagens de caramujos resistentes (Granath Jr., Connors & Tarleton, 1994). Posteriormente, foi verificado que a inoculação da proteína recombinante humana de interleucina-1 beta (rhIL-1β) em caramujos *B. glabrata* susceptíveis resulta em uma rápida ativação dos hemócitos e produção de superóxidos equivalentes ao que se verifica em caramujos resistentes; como conseqüência, tem-se uma redução altamente significativa do número de cercárias produzidas pelos caramujos inoculados (Connors, De Buron & Granath Jr., 1995). Mais tarde, Connors et al. (1998) demonstraram que a diminuição na produção de cercárias, observada em *B. glabrata* susceptíveis inoculados com rhIL-1β, é conseqüência da elevada mortalidade de esporocistos primários. Embora a hemolinfa livre de células recolhida de caramujos tratados com rhIL-1 β tenha sido capaz de matar esporocistos de *S. mansoni*, testes *in vitro* mostram que rhIL-1 β, *per si*, não apresenta efeito tóxico, sugerindo que no processo de destruição do parasito esta proteína possa estar atuando na estimulação da produção de fatores citotóxicos solúveis por *B. glabrata*.

MECANISMOS FUNCIONAIS NA INTERAÇÃO PARASITO-MOLUSCO

Muitos aspectos da interação entre larvas de trematódeos digenéicos e o sistema interno de defesa de moluscos têm sido elucidados nos últimos anos, entretanto os mecanismos responsáveis pela destruição da maior parte das larvas do parasito em caramujos resistentes ainda não estão totalmente definidos. Os resultados relatados até o momento sugerem que o hemócito seja o principal elemento efetor no mecanismo de destruição de trematódeos, estando diretamente envolvido na morte de alguns parasitos encapsulados (van der Knaap & Loker, 1990; Bayne, Hahn & Bender, 2001) ou na produção de fatores solúveis que poderiam ser citotóxicos (Connors, De Buron & Granath Jr., 1995). Outro ponto de concordância da maioria dos autores (Connors, De Buron & Granath Jr ., 1995; Bayne, Hahn & Bender, 2001; Martins-Souza et al., 2003) é que a defesa dos caramujos geralmente ocorre por intermédio da destruição, total ou parcial, do esporocisto primário nas primeiras horas após a penetração do miracídio.

Desta forma, o processo de destruição dos esporocistos por hemócitos inicia-se com a atração dos hemócitos para a proximidade do esporocisto primário, sugerindo uma resposta quimiotática. Resposta

quimiotática de células da hemolinfa de moluscos a larvas de trematódeos tem sido demonstrada *in vitro* e *in vivo*, embora o mecanismo de estimulação destas células ainda não esteja bem estabelecido.

Segundo Núñez & De Jong-Brink (1997), durante a transformação *in vitro* de miracídios de *Trichobilharzia ocellata* em esporocisto-mãe, inicialmente ocorre a liberação de um polipeptídeo de 2 kDa entre os produtos excretados e secretados (E/S) pelo parasito, o que estimula a atividade dos hemócitos. Subseqüentemente, o produto excretado e secretado pelo parasito é constituído predominantemente por uma proteína de 40 kDa, que suprime a atividade dos hemócitos. Entretanto, o efeito supressivo da fração de 40 kDa só pode ser encontrado em combinações de parasito e hospedeiro compatíveis. Desta maneira, os autores demonstraram que esporocistos de *S. mansoni* causam uma ativação inicial nos hemócitos de *Lymnaea*, assim como esporocistos de *T. ocellata* ativam os hemócitos de *Planorbarius corneus*, porém nos dois casos os parasitos não foram capazes de suprimir esta atividade no decorrer da infecção, resultando em rápida destruição dos trematódeos pelo hospedeiro incompatível.

Lodes & Yoshino (1990) mostraram que produtos excretados e secretados por esporocistos de *S. mansoni* estimulam a mobilidade de hemócitos de linhagens resistentes de *B. glabrata*, mas inibem a mobilidade de hemócitos de cepas suscetíveis. Posteriormente, foi relatado que o número de hemócitos circulantes e a porcentagem de células fagocitárias são semelhantes em *B. glabrata* e *B. tenagophila* livres de infecção, tanto nas linhagens resistentes quanto nas suscetíveis a *S. mansoni.* Entretanto, cinco horas após a infecção por *S. mansoni* ocorre uma significativa diminuição do número de hemócitos circulantes em todas as linhagens estudadas, ocorrendo uma diminuição mais intensa nas linhagens resistentes. Portanto, a diminuição de hemócitos circulantes em *Biomphalaria* infectada por *S. mansoni* está provavelmente associada ao recrutamento de tais células para o local da infecção, sugerindo que a quimiotaxia e o encapsulamento do esporocisto primário por hemócitos circulantes são fenômenos que ocorrem num espaço de poucas horas, sendo os mesmos fundamentais para se determinar o sucesso da eliminação do parasito no molusco hospedeiro (Bezerra et al., 1997; Martins-Souza et al., 2003).

O contato do hemócito com o tegumento do parasito pode resultar no encapsulamento do parasito que, em alguns casos, resulta na destruição dos esporocistos (Newton, 1952). No processo de encapsulamento e destruição dos esporocistos existe uma interação muito forte entre hemócitos e os fatores solúveis presentes na hemolinfa. Bayne et al. (1984) demonstraram em estudos *in vitro* que hemócitos de *B. glabrata* suscetíveis ou resistentes à infecção são capazes de encapsular os esporocistos de *S. mansoni*, porém somente hemócitos de linhagens geográficas resistentes são capazes de causar algum dano à membrana dos esporocistos. A destruição, *in vitro*, de esporocistos primários por hemócitos também tem sido observada utilizando-se células isoladas de linhagens de *B. tenagophila* (Figura 3).

Evidências recentes indicam que as lectinas têm um papel muito importante no reconhecimento do parasito pelos hemócitos e na ativação destas células. Hemócitos de *B. glabrata*, de linhagens susceptíveis e resistentes, foram estimulados com albumina bovina conjugada a seis carboidratos (manose, galactose, fucose, *N*-acetilglicosamina, *N*-acetilgalactosamina e lactose) que estão presentes no tegumento de esporocistos de *S. mansoni*, sendo que BSA-galactose, BSA-manose e BSA-fucose foram capazes de induzir a produção de metabólitos reativos de oxigênio – ROS (Hahn, Bender & Bayne, 2000).

Vários graus de susceptibilidade ou de resistência podem modificar os aspectos histológicos da interação *B. glabrata-S. mansoni*. Nos moluscos altamente susceptíveis, capazes de eliminar grandes quantidades de cercárias por um longo período de tempo, os esporocistos e as cercárias em várias fases de desenvolvimento

são encontrados em abundância no interior do hospedeiro. A presença de grande número de parasitos resulta em dissociação e compressão de estruturas do hospedeiro, principalmente no interstício das glândulas digestivas, ovotéstis e túbulos renais, evidenciando um estado de tolerância, com a falta quase total de reação celular de defesa (Figura 4A). No outro extremo aparecem os caramujos resistentes, que eliminam poucas cercárias, mas que mostram extensa infiltração dos tecidos com numerosos hemócitos, freqüentemente dispostos em torno de estruturas parasitárias em desintegração (Figuras 4B, 4D). Destas, a estrutura mais diferenciada é a lesão encapsulante, também considerada 'granuloma'. Esta lesão é formada pela disposição concêntrica dos hemócitos em torno de parasitos mais ou menos degradados (Figuras 4C, 4D). Os hemócitos mais periféricos se alongam nos seus filopódios e se tocam uns nos outros adquirindo um aspecto que lembra as laminações concêntricas de colágeno vistas em granulomas dos vertebrados. Mas a estrutura das lesões encapsulantes em *B. glabrata* é puramente celular e não contém colágeno (Borges & Andrade, 2003). Em se baseando nas reações celulares para se inferir sobre o estado de resistência ou susceptibilidade, todos os estágios intermediários, entre uma *B. glabrata* altamente susceptível e outra altamente resistente, podem ser encontrados na natureza. Já foi mesmo descrita uma situação pouco comum em moluscos altamente resistentes que, após infecção, apresentaram reações celulares, na ausência de formas parasitárias intactas (Godoy et al., 1997). Intensa reação celular granulomatosa também tem sido observada na região do manto e antena de *B. tenagophila* do Taim após a infecção com *S. mansoni*, sendo que em tais lesões são observados apenas fragmentos do parasito (Figura 5); é importante ressaltar que a presença de esporocistos secundários ou cercárias não é observada em caramujos infectados da linhagem do Taim (Martins-Souza, 1999). Também tem sido documentado que animais com o quadro de alta susceptibilidade, definido por dados histológicos e parasitários, podem evoluir para o outro extremo do espectro com o passar do tempo de infecção, o que sugere a existência de um mecanismo de imunidade adquirida ao longo do tempo (Lemos & Andrade, 2001).

Figura 3 – Esporocisto primário de *Schistosoma mansoni* incubado com hemolinfa total de *Biomphalaria tenagophila* da linhagem Taim. Observar a presença de esporocistos íntegros e de esporocitos com deposição de hemócitos e deformação do tegumento

Figura 4 – Presença de formas evolutivas do *Schistosoma mansoni* no interstício das glândulas digestivas de *Biomphalaria glabrata*, com diferentes graus de resistência ou susceptibilidade. A: Hospedeiro altamente susceptível mostra difusa proliferação de esporocistos e formas evolutivas de cercárias separando e comprimindo as estruturas glandulares, na ausência de reação celular; B: num animal resistente o interstício entre as glândulas aparece espessado pela densa infiltração de hemócitos, vendo-se acima um foco de proliferação das formas parasitárias; C: parasitos destruídos, com hemócitos formando uma reação encapsulante em torno e, ao lado, exibindo uma densa infiltração focal; D: típica reação encapsulante centrada por parasitos em desintegração. Secções coradas pela Hematoxilina & Eosina, ABC: X 100; D: X 200

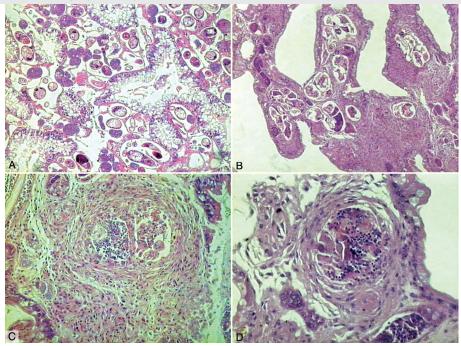
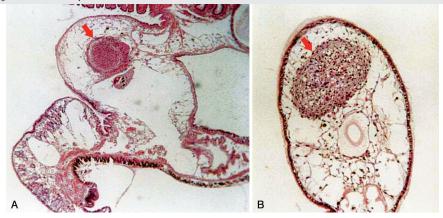



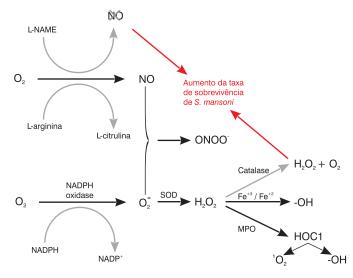
Figura 5 – Hemócitos formando uma reação encapsulante (setas) na região do manto (A) e base da antena (B) de *Biomphalaria tenagophila* da linhagem Taim, após cinco dias de infecção por *Schistosoma mansoni*. Secções coradas pela Hematoxilina & Eosina, X 100

Os mecanismos pelos quais os hemócitos destroem o parasito ainda não foram completamente elucidados. Dependendo do tamanho, os organismos (ou partículas) podem ser fagocitados pelos hemócitos ou encapsulados (como no caso de larvas de Digenea) e subseqüentemente lesados por metabólitos secretados pelos hemócitos ativados (Adema et al., 1997a, 1997b). Quando analisados com auxílio de microscópico eletrônico, a porção do tegumento do esporocisto que está rodeada por hemócitos parece também sofrer fagocitose. Assim, pode ocorrer um mecanismo de destruição do esporocisto por agressão mecânica. A emissão de pseudópodes por hemócitos de linhagens resistentes pode destruir diretamente o tegumento sincicial do parasito, uma estrutura necessária para a aquisição de nutrientes e manutenção do equilíbrio osmótico do esporocisto (van der Knaap & Loker, 1990).

Alem da lesão mecânica do tegumento de esporocistos, outro mecanismo envolvido na morte do parasito mediada por células parece ser a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) pelos hemócitos. Dikkeboom et al. (1988a, 1988b) demonstraram que os hemócitos de gastrópodes produzem ROS, e que este processo, semelhante à citotoxicidade oxidativa de macrófagos de mamíferos, é induzido em resposta à infecção por trematódeos parasitos. O envolvimento direto de ROS na morte de trematódeos foi demonstrado por Adema et al. (1994) usando esporocistos de *Trichobilharzia ocellata* e hemócitos de *Lymnaea stagnalis*, bem como *S. mansoni* e *B. glabrata*, para revelar que, quando a produção de ROS pelos hemócitos é inibida, compromete-se a habilidade dos hemócitos de matarem o parasito.

A geração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio por células fagocitárias está esquematicamente representada na Figura 6. A produção de ROS por hemócitos de *L. stagnalis* (Adema et al., 1993) ou por hemócitos de *S. mansoni* (Hahn, Bender & Bayne, 2001a) é dependente de NADPH. O complexo enzimático NADPH oxidase catalisa a produção de superóxido (O_2^-), o qual serve como primeiro radical na cadeia de produção de oxidantes adicionais: H_2O_2, - OH, HOCl e O_2^- (Hampton, Kettle & Winterbourn, 1998). Adicionalmente, muitos tipos de células fagocitárias possuem óxido nítrico sintase induzível (iNOS), o qual gera óxido nítrico (NO) a partir de oxigênio molecular e arginina. Embora NO tenha atividade citotóxica local, ele rapidamente reage com O_2^- para formar um oxidante mais reativo, peroxinitrito ($ONOO^-$) (Bayne, Hahn & Bender, 2001). Em neutrófilos de mamíferos, muito dos O_2^- produzidos é convertido a peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e grande parte destas moléculas são degradadas por mieloperoxidase (MPO), uma enzima que usa H_2O_2 e íons cloreto para produzir HOCl, o mais potente bactericida produzido pelas células de defesa, em mamíferos (Makino et al., 1986).

De maneira semelhante aos mamíferos, hemócitos de alguns moluscos podem gerar HOCl (Torreilles, Guerin & Roch, 1997) e NO (Torreilles & Guerin, 1999; Arumugam et al., 2000). Na tentativa de confirmar a participação de diferentes metabólitos reativos de oxigênio e nitrogênio no processo de encapsulamento e morte de larvas de trematódeos por hemócitos de *B. glabrata*, inibidores enzimáticos ou oxidantes específicos foram adicionados durante a incubação, *in vitro*, de hemócitos resistentes e esporocistos de *S. mansoni.* Os resultados mostram que a inibição da produção de O_2^-, HOCl ou – OH não foi capaz de alterar a mortalidade de esporocistos, entretanto a adição de catalase, que converte H_2O_2 em água e oxigênio molecular, bem como a adição de L-NAME, que inibe NOS e conseqüentemente a produção de NO, foi capaz de inibir a mortalidade de esporocistos do trematódeo por hemócitos de *B. glabrata* resistentes (Figura 6) (Hahn, Bender & Bayne, 2001a, 2001b). Segundo Bayne, Hahn & Bender (2001), a natureza altamente reativa de HOCl, -OH e $ONOO^-$ limita sua atividade

ao tegumento do esporocisto de *S. mansoni*, o qual pode resistir a um dano significativo e recuperar-se, devido à sua rápida metamorfose ou por seus mecanismos de reparo; ao passo que a natureza menos reativa de H_2O_2 e NO, juntamente com a habilidade, própria destes compostos, de atravessar membranas, pode permitir a destruição do esporocisto.

Figura 6 – Esquema ilustrativo da geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (NOS) em células fagocitárias. Na associação *in vitro* de hemócitos de *Biomphalaria glabrata* com esporocistos de *Schistosoma mansoni*, a adição de L-NAME, inibidor da atividade de NOS, ou de catalase, enzima responsável pela degradação de peróxido de hidrogênio, resulta no aumento do número de esporocistos viáveis

Fonte: modificado de Bayne, Hahn & Bender (2001).

Finalmente, para avaliar a eficiência do sistema de defesa de *Biomphalaria* spp na destruição de larvas de *S. mansoni*, deve-se considerar que existem muitas evidências que indicam que o parasito é capaz de desenvolver estratégias que permitem sua evasão. Desta maneira, tem sido descrito que o esporocisto primário de *S. mansoni* rapidamente adquire antígenos presentes na hemolinfa do hospedeiro (Bayne, Loker & Yui, 1986), bem como expressa no tegumento antígenos semelhantes aos expressos pelas células do hospedeiro (Yoshino & Bayne, 1983), dificultando o processo de reconhecimento do parasito pelos hemócitos. Também tem sido relatado que componentes do material excretado/secretado pelo miracídio no processo de transformação podem reduzir a motilidade dos hemócitos, bem como sua capacidade fagocitária (Lodes & Yoshino, 1990; Connors & Yoshino, 1990), podendo justificar a reação celular quase inexistente observada ao redor de esporocistos de *S. mansoni* presentes no tecido de linhagens susceptíveis de *B. glabrata* (Figura 4A, já apresentada). Além de evitar a aproximação de hemócitos, também tem sido relatado que esporocistos incubados *in vit*ro com hemócitos de linhagens susceptivéis de hemócitos podem ser encapsulados, mas não destruídos (Boehmler, Fryer & Bayne, 1996; Hahn, Bender & Bayne, 2001a), sugerindo a existência de mecanismos antioxidantes.

PERPECTIVAS

Os estudos mais recentes relativos ao sistema interno de defesa de invertebrados têm revelado novos aspectos na relação de invertebrados com patógenos, aspectos estes que têm auxiliado na compreensão dos mecanismos de reconhecimento e ativação celular também presentes na resposta de defesa inata de vertebrados. A interação *Biomphalaria-Schistosoma mansoni*, além de representar um modelo de importância na saúde humana, constitui uma abordagem experimental que poderá adicionar informações importantes para a compreensão dos mecanismos de defesa utilizados por invertebrados e da evolução filogenética destes mecanismos.

Neste contexto, tem-se trabalhado com a caracterização histopatológica, fenotípica e funcional dos hemócitos de diversas linhagens geográficas de *B. glabrata* e *B. tenagophila*, com o intuito de identificar diferenças qualitativas e/ou quantitativas que possam ser associadas às grandes variações de susceptibilidade ao parasito relatado naqueles hospedeiros. Estes fatores de diferenciação de linhagens de *Biomphalaria* têm sido testados em experimentos *in vitro*, com o intuito de identificar possíveis mecanismos responsáveis pela destruição de larvas de *S. mansoni*. A identificação destes mecanismos poderá auxiliar o desenvolvimento de novas estratégias de controle da transmissão da esquistossomose.

REFERÊNCIAS

ADEMA, C. M. & LOKER, E. S. Specificity and immunobiology of larval digenean-sanil associations. In: FRIED, B. & GRACZYK, T. K. (Eds.) *Advances in Trematode Biology.* Boca Raton: CRC Press, 1997.

ADEMA, C. M.; HARRIS, R. A. & VAN DEUTEKOM-MULDER, E. C. A comparative study of hemocytes from six different snails: morphology and functional aspects. *Journal of Invertebrate Pathology*, 59: 24-32, 1992.

ADEMA, C. M. et al. NADPH-oxidase activity - the probable source of reactive oxygen intermediate generation in hemocytes of the gastropod *Lymnaea stagnalis*. *Journal of Leukocyte Biology*, 54: 379-383, 1993.

ADEMA, C. M. et al. Schistosomicidal activities of *Lymnaea stagnalis* hemocytes: the role of oxygen radicals. *Parasitology*, 109: 479-485, 1994.

ADEMA, C. M. et al. A time-lapse study of interactions between *Echinostoma paraensei* intramolluscan larval stages and adherent hemocytes from *Biomphalaria glabrata* and *Helix aspersa. The Journal of Parasitology*, 80: 719-727, 1997a.

ADEMA, C. M. et al. A family of fribrinogen – related proteins that precipitates parasite – derived molecules is produced by na invertebrate after infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94: 8.691-8.696, 1997b.

AMEN, R. I. et al. Effects of *Trichobilharzia* on hemocytes of *Lymnaea stagnalis. Developmental and Comparative Immunology*, 15: 105-115, 1991.

ARUMUGAM, M. et al. *In vitro* production of superoxide and nitric oxide (as nitrite and nitrate) by *Mytilus galloprovincialis* haemocytes upon incubation with PMA or laminarin or during yeast phagocytosis. *European Journal of Cell Biology*, 79(7): 513-519, 2000.

BAKER, F. C. General morphology. In: BAKER, F. C. & VAN CLEAVE, H. J. *The Molluscan Family Planorbidae*. Urbana: University of Illinois Press, 1945.

BARRACO, M. A.; STEIL, A. A. & GARGIONI, R. Morphological characterization of the hemocytes of the pulmonate snail *Biomphalaria tenagophila*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 88: 73-83, 1993.

BASCH, P. F. Intermediate host specificity in *Schistosoma mansoni. Experimental Parasitology*, 39: 150-169, 1976.

BAYNE, C. J.; BUCKLEY, P. M. & DEWAN, P. C. Macrophage-like hemocytes of resistant *Biomphalaria glabrata* are cytotoxic for sporocysts of *Schistosoma mansoni in vitro. The Journal of Parasitology*, 66: 413-419, 1980a.

BAYNE, C. J.; BUCKLEY, P. M. & DEWAN, P. C. *Schistosoma mansoni*: cytotoxicity of hemocytes from suscetible snail hosts for sporocysts in plasma from resistant *Biomphalaria glabrata*. *Experimental Parasitology*, 50: 409-416, 1980b.

BAYNE, C. J.; HAHN, U. K. & BENDER, R. C. Mechanisms of molluscan host resistance and of parasite strategies for survival. *Parasitology*, 123: S159-S167, 2001.

BAYNE, C. J.; LOKER, E. S. & YUI, M. A. Interactions between plasma proteins of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda) and the sporocyst tegument *of Schistosoma mansoni* (Trematoda). *Parasitology*, 92: 653-664, 1986.

BAYNE, C. J. et al. Immune-recognition of *Schistosoma mansoni* primary sporocysts may require specific receptors on *Biomphalaria glabrata* hemocytes. *Parasite Immunology*, 6: 519-528, 1984.

BECK, G. & HABICHT, G. S. Isolation and characterization of a primitive interleukin-1-like protein from an invertebrate, *Asterias forbesi*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83: 7.429-7.433, 1986.

BECK, G.; O'BRIEN, R. F. & HABICHT, G. S. Invertebrate cytokines: the phylogenetic emergence of interleukin-1. *Bioessays*, 11: 62-67, 1989.

BECK, G. et al. Invertebrate cytokines III: Invertebrate interleukin-1-like molecules stimulate phagocytosis by tunicate and echinoderm cells. *Cellular Immunology*, 146: 284-299, 1993.

BEZERRA, F. S. M. et al. Quantification of the number and phagocytary activity of hemocytes of resistant and susceptible strains of *Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria tenagophila* infected with *Schistosoma mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 39: 197-201, 1997.

BEZERRA, F. S. M. et al. Effect of gamma radiation on the activity of hemocytes and on the course of *Schistosoma mansoni* infection in resistant *Biomphalaria tenagophila* snails. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 98: 73-75, 2003.

BOEHMLER, A. M.; FRYER, S. E. & BAYNE, C. J. Killing of *Schistosoma mansoni* sporocysts by *Biomphalaria glabrata* hemolymph *in vitro:* alteration of hemocyte behavior after poly-L-lysine treatment of plastic and the kinetics of killing by different host strains. *The Journal of Parasitology*, 82: 332-335, 1996.

BORGES, C. M. C. & ANDRADE, Z. A. Extra-cellular matriz changes in *Schistosoma mansoni*-infected *Biomphalaria glabrata*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 98: 135-139, 2003.

BURKE, R. D. & WATKINS, R. F. Stimulation of starfish coelomocytes by interleukin-1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 180: 579-584, 1991.

CONNORS, V. A. & YOSHINO, T. P. *In vitro* effect of larval *Schistosoma mansoni* excretory-secretory products on phagocytosis-stimulated superoxide production in hemocytes from *Biomphalaria glabrata*. *The Journal of Parasitology*, 76: 895-902, 1990.

CONNORS, V. A.; DE BURON, I. & GRANATH JUNIOR, W. O. *Schistosoma mansoni*: interleukin-1 increases phagocytosis and superoxide production by hemocytes and decreases output of cercariae in schistosome-susceptible *Biomphalaria glabrata*. *Experimental Parasitology*, 80: 139-148, 1995.

CONNORS, V. A. et al. Recombinant human interleukin-1-mediated killing of *Schistosoma mansoni* primary sporocysts in *Biomphalaria glabrata*. *The Journal of Parasitology*, 84: 920-926, 1998.

CORREA, L. R. & PARAENSE, W. L. Susceptibility of *Biomphalaria amazonica* to infection with two strains of *Schistosoma mansoni. Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 13: 387-390, 1971.

DAVIDS, B. J. & YOSHINO, T. P. Integrin-like RGD-dependent binding mechanism involved in the spreading response of circulating molluscan phagocytes. *Developmental and Comparative Immunology*, 22: 39-53, 1998.

DIKKEBOOM, R. et al. The production of toxic oxygen metabolites by hemocytes of different snail species. *Developmental and Comparative Immunology*,12: 509-520, 1988a.

DIKKEBOOM, R. et al. Possible role of reactive forms of oxygen in in vitro killing of *Schistosoma mansoni* sporocysts by hemocytes of *Lymnaea stagnalis*. *Parasitology Research*, 75: 148-154, 1988b.

FRYER, S. E. & BAYNE, C. J. Phagocytosis of latex beads by *Biomphalaria glabrata* hemocytes is modulated in a strain-specific manner by absorbed plasma components. *Developmental and Comparative Immunology*, 20: 323-337, 1996.

GODOY, A. et al. Unusual histological findings in *Biomphalaria glabrata* with high degree of resistance to *Schistosoma mansoni* miracidia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92: 121-122, 1997.

GRANATH JR., W. O. & YOSHINO, T. P. Characterization of molluscan phagocyte subpopulations based on lysosomal enzyme markers. *The Journal of Experimental Zoology*, 226: 205-226, 1983.

GRANATH JR., W. O. & YOSHINO, T. P. *Schistosoma mansoni*: passive transfer of resistance by serum in the vector snail, *Biomphalaria glabrata*. *Experimental Parasitology*, 58: 188-193, 1984.

GRANATH JR., W. O.; CONNORS, V. A. & TARLETON, R. L. Interleukin-1 activity in hemolymph from strains of the snail *Biomphalaria glabrata* varying in susceptibility to the human blood fluke, *Schistosoma mansoni*: presence, differential expression, and biological function. *Cytokine*, 6(1): 21-27, 1994.

HAHN, U. K.; BENDER, R. C. & BAYNE, C. J. Production of reactive oxygen species by hemocytes of *Biomphalaria glabrata*: carbohydrate-specific stimulation. *Developmental and Comparative Immunology*, 24: 531-541, 2000.

HAHN, U. K.; BENDER, R. C. & BAYNE, C. J. Involvement of nitric oxide in killing of *Schistosoma mansoni* sporocysts by hemocytes from resistant *Biomphalaria glabrata*. *The Journal of Parasitology*, 87: 778-785, 2001a.

HAHN, U. K.; BENDER, R. C. & BAYNE, C. J. Killing of *Schistosoma mansoni* sporocysts by hemocytes from resistant *Biomphalaria glabrata*: role of reactive oxygen species. *The Journal of Parasitology*, 87: 292-299, 2001b.

HAMPTON, M. B.; KETTLE, A. J. & WINTERBOURN, C. C. Inside the neutrophil: oxidants myeloperoxidase, and bacterial killing. *Blood*, 92: 3.007-3.017, 1998.

HARRIS, K. R. The Fine Structure of encapsulation in *Biomphalaria glabrata*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 266: 446-464, 1975.

HOFFMANN, J. A. The immune response of *Drosophila*. *Nature*, 426(6.962): 33-38, 2003.

HOFFMANN, J. A. et al. Phylogenetic perspectives in innate immunity. *Science*, 284(5.418): 1.313-1.318, 1999.

HUGHES, T. K. et al. LPS stimulated invertebrate hemocytes: A role for immunoreactive TNF and IL-1. *Developmental and Comparative Immunology*, 15: 117-122, 1991.

JOHNSTON, L. A. & YOSHINO, T. P. Analysis of lectin- and snail plasma-binding glycopeptides associated with the tegumental surface of the primary sporocysts of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 112: 469-479, 1996.

JOHNSTON, L. A. & YOSHINO, T. P. Larval *Schistosoma mansoni* excretory-secretory glycoproteins (ESPs) bind to hemocytes of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda) via surface carbohydrate binding receptors. *The Journal of Parasitology*, 87: 786-793, 2001.

JOKY, A.; MATRICON-GONDRAN, M. & BENEX, J. Fine strutural differences in the Amoebocytes of *Biomphalaria glabrata. Developmental and Comparative Immunology*, 7: 669-672, 1983.

JOURDANE, J.; THERON, A. & COMBES, C. Demonstration of several sporocysts generations as a normal pattern of reproduction of *Schistosoma mansoni. Acta Tropica*, 37: 177-182, 1980.

KATZ, N. & PEIXOTO, S. V. Critical analysis of the estimated number of Schistosomiasis mansoni carriers in Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 33: 303-308, 2000.

LEMOS, Q. T. & ANDRADE, Z. A. Sequential histological changes in *Biomphalaria glabrata* during the course of *Schistosoma mansoni* infection. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95: 719-721, 2001.

LIE, K. J.; HEYNEMAN, D. & JEONG, K. H. Studies on resistance in snails. 4. induction of ventricular capsules and changes in amebocyte-producing organ during sensitization of *Biomphalaria glabrata* snails. *The Journal of Parasitology*, 62: 286-291, 1976.

LIE, K. J.; JEONG, K. H. & HEYNEMAN, D. Molluscan host reactions to helminthic infection. In: SOULSBY, E. J. L. *Protozoa, Arthropods and Invertebrates.* Boca Raton: CRC-Prees INC, 1987.

LODES, M. J. & YOSHINO, T. P. The effect of Schistosome excretory-secretory products on *Biomphalaria glabrata* hemocytes motility. *Journal of Invertebrate Pathology*, 56: 75-85, 1990.

LOKER, E. S.; BAYNE, C. J. & YUI, M. A. *Echinostoma paraensei:* Hemocytes of *Biomphalaria glabrata* as targets of echinostome mediated inference with host snail resistance to *Schistosoma mansoni. Experimental Parasitology*, 62: 149-154, 1986.

LOKER, E. S.; YUI, M. A. & BAYNE, C. J. *Schistosoma mansoni*: aglutination of sporocysts, and formation of gels on miracidia transforming in plasma of *Biomphalaria glabrata. Experimental Parasitology*, 58: 56-62, 1984.

LOKER, E. S. et al. Invertebrate immune systems – not homogeneous, not simple, not well understood. *Immunological Reviews*, 198: 10-24, 2004.

MAKINO, R. et al. Stoichiometric conversion of oxygen to superoxide anion during the respiratory burst in neutrophils. Direct evidence by a new method for measurement of superoxide anion with diacetyldeuteroheme-substituted horseradish peroxidase. *The Journal of Biological Chemistry*, 261: 1.444-1.447, 1986.

MALDONADO, J. F. & ACOSTA-MATIENZO, J. Evolution del *Schistosoma mansoni* dentro de su hosped intermediario, el caracol *Australorbis glabratus. The Puerto Rico Journal of Public Health and Tropical Medicine*, 22: 374-404, 1947.

MARTINS-SOUZA, R. L. *Fatores Associados à Resistência de* Biomphalaria tenagophila *na Infecção por* Schistosoma mansoni, 1999. Dissertação Mestrado, Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.

MARTINS-SOUZA, R. L. et al. Silica treatment increases the susceptibility of the Cabo Frio strain of *Biomphalaria tenagophila* to *Schistosoma mansoni* infection but does not alter the natural resistance of the Taim strain. *Parasitology Research*, 91: 500-507, 2003.

MATRICON-GONDRAN, M. & LETOCART, M. Internal defenses of the snail *Biomphalaria Glabrata* – I. Caracterization of hemocytes and fixed phagocytes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 74: 224-234, 1999a.

MATRICON-GONDRAN, M. & LETOCART, M. Internal Defenses of the Snail *Biomphalaria glabrata* - II. Defense cells have different phagocytic responses to various injected foreign materials. *Journal of Invertebrate Pathology*, 74: 235-247, 1999b.

MITTA, G. et al. Involvement of mytilins in mussel antimicrobial defense. *The Journal of Biological Chemistry*, 275: 12.954-12.962, 2000.

NEWTON, W. L. The comparative tissue reaction of two strains of *Autralorbis glabratus* to infection with *Schistosoma mansoni. The Journal of Parasitology*, 38: 362-366, 1952.

NEWTON, W. L. The inheritance of susceptibility to infection with *Schistosoma mansoni* in *Autralorbis glabratus*. *Experimental Parasitology*, 2: 242-257, 1953.

NÚÑEZ, P. E. & DE JONG-BRINK, M. The suppressive excretory-secretory product of *Trichobilharzia ocellata*: a possible factor for determining compatibility in parasite-host interactions. *Parasitology*, 115: 193-203, 1997.

OTTAVIANI, E. Immunorecognition in the gastropod molluscs with particular reference to the freshwater snail *Planorbius corneus (L.)* (Gastropoda, Pulmonata). *Bollettino di Zoologia*, 59: 129-139, 1992.

OTTAVIANI, E.; CASELGRANDI, E. & FRANCESCHI, C. Cytokines and evolution: *in vitro* effects of IL-1 alpha, IL-1 beta, TNF-alpha and TNF-beta on an ancestral type of stress response. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 207: 288-292, 1995.

OTTAVIANI, E.; FRANCHINI, A. & FRANCESCHI, C. Presence of several cytokine-like molecules in molluscan hemocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 195: 984-988, 1993.

OUWE-MISSI-OUKEM-BOYER, O. et al. Characterization of immunoreactive TNF molecules in the gastropod *Biomphalaria glabrata*. *Developmental and Comparative Immunology*, 18: 211-218, 1994.

PAN, C. Studies on the host-parasite relationship between *Schistosoma mansoni* and the snail *Australorbis galbratus. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 14: 931-976, 1965.

PARAENSE, W. L. Planorbídeos hospedeiros intermediários de *Schistosoma mansoni*. In: CUNHA, A. S. *Esquistossomose Mansônica*. São Paulo: Sarvier, Edusp, 1970.

PARAENSE, W. L. The Schistosome vectors in the Americas. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 7-16, 2001.

PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. Variation in susceptibility of populations of *Australorbis glabratus* to a strain of *Schistosoma mansoni. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 5: 15-22, 1963.

PARAENSE, W. L. & CORREA, L. R. Susceptibility of *Biomphalaria peregrina* from Brazil and Ecuador to two strains of *Schistosoma mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 15: 127-130, 1973.

PEREIRA, L. H. et al. Recovery of young daughter sporocysts from snails infected with *Schistosoma mansoni. Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygine*, 78: 563, 1984.

RAFTOS, D. A. et al. Invertebrate cytokines: tunicate cell proliferation stimulated by an interleukin-1-like molecule. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88: 9.518-9.522, 1991.

RAFTOS, D. A. et al. Invertebrate cytokines II: release of interleukin-1-like molecules from tunicate hemocytes stimulated with zymosan. *Lymphokine and Cytokine Research*, 11: 235-240, 1992.

RICHARDS, C. S. Genetics of the host-parasite relationship between *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni.* Genetics aspects of host-parasite relationships. *Symposium of Brithis Society of Parasitology*, 14: 45-54, 1976a.

RICHARDS, C. S. Variation in infectivity for *Biomphalaria glabrata* in strains of *Schistosoma mansoni* from the same geographic area. *Bulletin of the World Health Organization*, 54: 706-707, 1976b.

RICHARDS, C. S. *Schistosoma mansoni:* susceptibility reversal with age in the snails host *Biomphalaria glabrata. Experimental Parasitology*, 42: 165-168, 1977.

RICHARDS, C. S. & RENWRANTZ, L. R. Two lectins on the surface of *Helix pomoatia* haemocytes: a Ca^{2+} dependent, GalNac-specific lectin and a Ca^{2+} independent, mannose 6-phosphate-specific lectin which recognizes activated homologous opsonins. *Journal of Comparative Physiology*, 161: 43, 1991.

RICHARDS, C. S. & SHADE, P. C. The genetic variation of compatibility in *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology*, 73: 1.146-1.151, 1987.

SANTOS, M. B. L. et al. Suscetibilidade ao *Schistosoma mansoni* de híbridos de *Biomphalaria tenagophila* do Taim, RGS, Cabo Frio, RJ, e Belo Horizonte. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 21: 281-286, 1979.

SAPP, K. K. & LOKER, E. S. Mechanisms underlying digenean-snail specificity: role of miracidial attachment and host plasma factors. *The Journal of Parasitology*, 86: 1.012-1.019, 2000.

SCHARRER, B. el al. The presence and effects of mammalian signal molecules in immunocytes of the insect *Leucophaea maderae*. *Cell and Tissue Research*, 283: 93-97, 1996.

SMINIA, T. Struture and function of blood cells of gastropods, In: RATCLIFFE, N. A. & ROWLEY, A. F. (Eds.) *Invertebrate Blood Cell*. New York: Acad. Press, 1981.

SOUZA, C. P. et al. Comparative histology of *Biomphalaria glabrata, B. tenagophila* and *B. straminea* with variable degrees of resistance to *Schistosoma mansoni* miracidia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92: 517-522, 1997.

SULLIVAN, J. T. & SPENCE, J. V. Transfer of resistance to *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria glabrata* by allografts of amoebocyte-producing organ. *The Journal of Parasitology*, 80: 449-453, 1994.

SULLIVAN, J. T. & SPENCE, J. V. Factors affecting adoptive transfer of resistance to *Schistosoma mansoni* in the snail intermediate host, *Biomphalaria glabrata*. *The Journal of Parasitology*, 85: 1.065-1.071, 1999.

SULLIVAN, J. T.; PIKIOS, S. S. & ALONZO, A. Q. Mitotic responses to extracts of miracidia and cercariae of *Schistosoma mansoni* in the amebocyte-producing organ of the snail intermediate host *Biomphalaria glabrata*. *The Journal of Parasitology*, 90: 92-96, 2004.

SULLIVAN, J. T.; SPENCE, J. V. & NUNEZ, J. K. Z. Killing of *Schistosoma mansoni* sporocysts in *Biomphalaria glabrata* implanted with amoebocyte-producing organ allografts from resistant snails. *The Journal of Parasitology*, 81: 829-833, 1995.

TORREILLES, J. & GUERIN, M. C. Production of peroxynitrite by zymozan stimulation of *Mytilus galloprovincialis* haemocytes in vitro. *Fish & Shellfish Immunology*, 85: 1.065-1.071, 1999.

TORREILLES, J.; GUERIN, M. C. & ROCH, P. Peroxidase-release associated with phagocytosis in *Mytilus galloprovincialis* haemocytes. *Developmental and Comparative Immunology*, 21: 267-275, 1997.

UCHIKAWA, R. & LOKER, E. S. Lectin-binding properties of the surfaces of in vitro-transformed *Schistosoma mansoni* and Echinostoma paraensei sporocysts. *The Journal of Parasitology*, 77: 742-748, 1991.

VAN DER KNAAP, W. P. & LOKER, E. S. Immune mechanisms in trematode-snail interactions. *Parasitology Today*, 6: 175-182, 1990.

YOSHINO, T. P. The ultrasructure of circulating hemolymph cells of the marine snail *Cerithidea californica* (Gastropoda: Prosobranchiata). *Journal of Morphology*, 150: 48, 1976.

YOSHINO, T. P. & BAYNE, C. J. Mimicry of snail host antigens by miracidia and primary sporocysts of *Schistosoma mansoni*. *Parasite Immunology*, 5: 317-328, 1983.

ZELCK, U. & BECKER, W. Lectin binding to cells of *Schistosoma mansoni* sporocysts and surrounding *Biomphalaria glabrata* Tissue. *Journal of Invertebrate Pathology*, 55: 93-99, 1990.

16 Aspectos Genéticos da Interação *Biomphalaria-Schistosoma mansoni*

Florence Mara Rosa
Paulo Marcos Zech Coelho
Deborah A. Negrão-Corrêa
Ana Lúcia Brunialt Godard

Cruzamento entre *Biomphalaria tenagophila* de Joinville e *Biomphalaria tenagophila* do Taim.

Este capítulo tem como objetivo apresentar os aspectos genéticos que regem a interação *Biomphalaria-Schistosoma mansoni*, bem como relatar as estratégias moleculares que estão sendo aplicadas neste tipo de estudo. Sabemos que esta relação é bem complexa e que fatores genéticos tanto do parasito como do hospedeiro estão envolvidos. Contudo, o genótipo do caramujo parece exercer um papel crucial e determinante nesta relação. Em *Biomphalaria glabrata* a resistência do molusco à infecção verificada na maturidade segue a segregação mendeliana e é de caráter dominante, porém há determinados estoques de *B. glabrata* que apresentam um comportamento bem diferente. Neste caso, o caráter resistência parece governado por vários genes. Estudos recentes realizados com *B. tenagophila* do Taim demonstraram que o caráter resistência pode ser determinado por dois genes dominantes e que provavelmente fatores genéticos e ambientais podem modular esta resposta. Neste mesmo capítulo far-se-á a inferência de um possível controle biológico em áreas endêmicas com a introdução da linhagem resistente (*B. tenagophila* do Taim) em áreas onde esta espécie é a única transmissora da doença.

A RELAÇÃO *Biomphalaria-Schistosoma mansoni*

Ao se discutir a relação *Biomphalaria-Schistosoma mansoni* é fundamental a consideração dos aspectos genéticos que regem esta interação. O sucesso do parasitismo parece depender basicamente da interação de fatores genéticos do parasito, do hospedeiro e também de um ajuste fisiológico entre ambos.

Variações na susceptibilidade de *Biomphalaria glabrata* de diversas áreas geográficas e também diferenças na infectividade das cepas de *S. mansoni* foram relatados por inúmeros autores (Files & Cram, 1949; Kuntz, 1952; Barbosa & Barreto, 1960; Paraense & Corrêa, 1963a).

Estudos pioneiros revelaram que a susceptibilidade de *B. glabrata* a *S. mansoni* era de caráter hereditário e que provavelmente envolveria fatores genéticos (Newton, 1952). Foram realizados vários cruzamentos entre a linhagem susceptível de *B. glabrata* de Porto Rico e a linhagem resistente da Bahia, Brasil. Os descendentes foram testados com a cepa de *S. mansoni* de Porto Rico (PR-1), apresentando taxas de infecção de 0% a 17,4% para F1, de 3% a 58,3% para F2 e uma geração F3 com taxas de 0% a 82%. É preciso salientar que a linhagem *B. glabrata* da Bahia utilizada não é totalmente resistente, pois quando jovem apresenta-se susceptível à infecção. Posteriormente, outros cruzamentos foram realizados e descobriu-se que o caráter resistência do molusco à infecção adquirido na maturidade segue uma segregação mendeliana e de caráter dominante (Richards, 1970). Recentemente, pesquisadores analisaram o fluxo gênico dos alelos envolvidos no caráter resistência (Lewis, Patterson & Grzwacz, 2002), por meio da contagem de indivíduos resistentes e susceptíveis, na geração F1, oriundos de intercruzamentos entre as linhagens parentais resistente (pigmentada) e susceptível (albina) de *B. glabrata*. Os resultados obtidos mostraram que o número de indivíduos F1 resistentes era maior que o número de indivíduos susceptíveis.

A idade é um outro fator que afeta a susceptibilidade em *B. glabrata*: caramujos mais jovens são mais susceptíveis à infecção. A susceptibilidade de *B. glabrata* jovem à infecção por *S. mansoni* parece ser regulada por um conjunto de fatores genéticos ligados a quatro ou mais genes (Richards & Merritt, 1972).

Fatores genéticos do parasito também influenciam a infectividade das cepas, pois os mesmos estoques de caramujos que foram susceptíveis à cepa de *S. mansoni* de Porto Rico (PR-1) apresentaram-se resistentes à cepa de *S. mansoni* de Santa Lúcia (L) (Richards, 1975). O mesmo autor, utilizando diferentes estoques de caramujos e diversas cepas de *S. mansoni*, observou que ocorre grande variação genética na relação entre *B. glabrata* e *S. mansoni* (Richards & Shade, 1987).

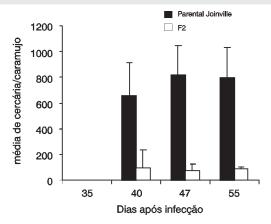
Em suma, pode-se dizer que a relação parasito-hospedeiro é uma relação bem complexa. Suspeita-se que variações genéticas do parasito e também do caramujo determinam a susceptibilidade de *B. glabrata*. Alguns autores reafirmam a importância do genótipo do caramujo (Richards, Knight & Lewis, 1992; Knight, Ongele & Lewis, 2000). O genótipo exerce um papel decisivo e determinante nessa relação, apresentando uma variedade de conseqüências como, por exemplo: o desenvolvimento do parasito sem reação em caramujos susceptíveis; atraso no desenvolvimento dos parasitos; reconhecimento, encapsulação e destruição do parasito por meio de hemócitos em caramujos resistentes. Apesar de os primeiros estudos relacionados à susceptibilidade de *B. glabrata* indicarem que a resistência no molusco adulto está associada a um único gene, alguns autores acreditam que há mais de um gene envolvido na eliminação do parasito (Jones et al., 2001).

Grande parte dos trabalhos aqui mencionados foram realizados com um estoque de diferentes linhagens isogênicas de *B. glabrata*, com diferentes níveis de susceptibilidade. Os estoques foram estabelecidos

após sucessivas infecções e por autofecundação durante várias gerações, em laboratório (Richards, 1973, 1975). Contudo, pouco se sabe a respeito do gene ou de genes que conferem resistência a *Biomphalaria tenagophila*. Esta espécie vem ampliando consideravelmente sua distribuição pelo território brasileiro, bem como aumentando a sua importância na transmissão da esquistossomose, principalmente nas regiões Sul e Sudeste do país (Paraense & Corrêa, 1987). *B. tenagophila* possui variado grau de resistência, sendo encontradas desde linhagens muito susceptíveis a linhagens totalmente resistentes. Estudos constataram que *S. mansoni* adaptado a *B. glabrata* de Minas Gerais apresentou maior dificuldade para infectar *B. tenagophila* de São Paulo e vice-versa (Paraense & Corrêa, 1963b). Este fato veio a demonstrar a existência de duas linhagens de *S. mansoni*: uma de Belo horizonte (BH), mais adaptada a *B. glabrata*, e a outra de São José do Campos (SJ), mais adaptada a *B. tenagophila*. A susceptibilidade desta espécie freqüentemente está relacionada à cepa geográfica de *S. mansoni*.

B. tenagophila de 18 localidades apresentaram taxas de infectividade que variavam de 0% a 91,5% quando expostos à cepa SJ de *S. mansoni* (Paraense & Corrêa, 1978). *B. tenagophila* de Belo Horizonte (MG) e de Cabo Frio (RJ) mostraram-se resistentes à cepa LE e susceptíveis à cepa SJ de *S. mansoni*, sendo que *B. tenagophila* de Cabo Frio apresentou 100% de susceptibilidade (Corrêa, Coelho & Freitas, 1979). Nos vales Paraíba do Sul e Ribeira, áreas dos principais focos endêmicos da esquistossomose em São Paulo, as populações de *B. tenagophila* apresentam índices de susceptibilidade elevados às cepas locais do *S. mansoni*. Isto pode significar um bem-sucedido ajustamento fisiológico das linhagens locais de caramujos àquelas cepas do parasito e vice-versa (Chieffi, 1975).

Para estudos recentes foram usadas duas populações de *B. tenagophila* do Brasil que apresentam pontos extremos com relação à susceptibilidade. Uma é a linhagem albina originária de Joinville, Santa Catarina, altamente susceptível às cepas LE e SJ de *S. mansoni* (Freitas, Boschi & Santos, 1985; Rosa et al., 2005). A outra é procedente da Estação Ecológica do Taim, Rio Grande do Sul, que tem se mostrado sistematicamente resistente, em todas as idades, frente a diversas linhagens geográficas do parasito, como também a cargas variáveis de miracídios (Santos, Freitas & Correia, 1979; Coelho et al., 2004). A resistência desta linhagem a *S. mansoni* não é resultado de uma incompatibilidade fisiológica entre parasito e hospedeiro, mas sim da existência de um sistema inato de defesa no próprio molusco (Coelho et al., 2004). A linhagem de Taim mostra-se um ótimo modelo para se estudar os aspectos genéticos ligados à resistência a *S. mansoni*. Trabalhos anteriores envolvendo o cruzamento de *B. tenagophila* do Taim com exemplares susceptíveis de *B. tenagophila* de Belo Horizonte (Santos, Freitas & Correia, 1979) e Joinville (Freitas, Boschi & Santos, 1985) mostraram que descendentes F1 resultantes de tais cruzamentos apresentavam baixos índices de susceptibilidade a *S. mansoni*. Atualmente, estão sendo realizados vários cruzamentos entre a linhagem resistente (*B. tenagophila* do Taim) e a susceptível albina (*B. tenagophila* de Joinville). Estudando o fenótipo dos descendentes F1 e F2 oriundo destes cruzamentos, verificou-se que o caráter resistência pode ser determinado por dois genes dominantes e que provavelmente fatores genéticos e ambientais podem modular esta resposta (Rosa et al., 2005). Dos 220 indivíduos F1 infectados com a cepa LE de *S. mansoni*, apenas um eliminava cercárias. A geração F2 obtida do intercruzamento entre indivíduos F1 apresentou índices de susceptibilidade de 5,26% a 8% e uma baixa produção de cercárias quando comparada com a do grupo parental *B. tenagophila* de Joinville (Figura 1).

Figura 1 – Média de cercárias produzidas pelo grupo parental *B. tenagophila* de Joinville e indivíduos susceptíveis da geração F2

Fonte: Rosa et al. (2005).

O marcador molecular, típico da linhagem do Taim, embora não esteja associado à resistência, também é de caráter dominante (Rosa et al., 2004). Este marcador é representado pela presença de uma banda de 350 pares de base da região do ITS do DNA ribossomal mitocondrial detectado pela técnica PCR-RFLP, usando-se a enzima *Ddel* I. Este marcador será de grande importância no monitoramento de um possível controle biológico. A idéia seria a troca do patrimônio genético da cepa susceptível local pelo patrimônio da cepa resistente introduzida. Neste caso, a descoberta de marcadores moleculares associados à resistência, bem como o conhecimento mínimo do genoma da espécie são de suma importância. Várias abordagens moleculares estão sendo usadas pelo grupo, tomando como base os estudos que vêm sendo desenvolvidos com *B. glabrata*.

Neste momento serão apresentadas as estratégias moleculares que estão sendo aplicadas no estudo da interação *B. glabrata-S. mansoni.* Para identificação do gene ou dos genes que controlam o caráter resistência em *B. glabrata*, dois tipos de estudos moleculares estão sendo utilizados (Jones et al., 2001). O primeiro consiste de uma série de técnicas moleculares que têm por objetivo gerar marcadores polimórficos que serão usados no mapeamento genético. O outro tipo de estudo refere-se ao estudo da expressão gênica, mediante isolamento do mRNA.

MAPEAMENTO GENÉTICO

No contexto da relação *B. glabrata-S. mansoni*, o mapeamento genético possibilitará a localização das regiões que controlam o caráter resistência. Se o fenótipo for transmitido de forma mendeliana, ou seja, um único gene responsável pela característica, o tipo de mapa a ser construído é o de ligação. Por outro lado, se houver mais de um gene controlando tal característica diz-se que a herança é multifatorial ou poligênica. Neste caso, todos os *loci* que têm significativa participação na determinação de uma característica são chamados de *Quantitative Trait Loci* (QTLs). O mapeamento de QTL é bem diferente daquele feito para uma característica monogênica, pois demanda uma estratégia experimental diferente e um volume maior de análises estatísticas. Uma cobertura detalhada da construção de um mapa foge do objetivo. Entretanto, far-se-á uma breve descrição dos dois tipos de mapeamento.

Um mapa de ligação é feito por meio da análise de segregação e da observação da freqüência de recombinação entre os marcadores moleculares e a progênie de parentes heterozigotos. O estudo de ligação baseia-se na observação de eventos de recombinação ocorridos entre os cromossomos homólogos durante a meiose, num mecanismo chamado de *crossing-over*. Os marcadores localizados em diferentes cromossomos ou muito distantes num mesmo cromossomo, na maior parte das vezes, têm segregação independente ou mendeliana, diferentemente dos marcadores que estão próximos num mesmo cromossomo, que exibem uma co-segregação. Desta forma, quanto menor seja a distância física que separa dois marcadores num cromossomo, menor será a freqüência de recombinação. Um mapa de ligação contém a informação da ordem relativa dos marcadores ao longo do cromossomo, bem como a distância que os separa. Esta distância é medida em função da taxa de recombinação e é chamada de centiMorgan (cM), onde um cM equivale a 1% de recombinação ou, em outras palavras, um único evento de recombinação ocorreu em cem meioses, o que corresponde a 1 Mb no genoma humano e a 1,8 Mb no genoma murino.

Assim, em organismos com reprodução sexuada e passíveis de serem cruzados em laboratório, o estudo de ligação é um eficiente caminho para a localização de seqüências que contribuam na herança dos fenótipos. Os requerimentos básicos para se realizar um estudo de ligação são poucos; o primeiro deles é ter a certeza de que foi realizado um intercruzamento entre dois indivíduos homozigotos, porém diferentes. Os indivíduos F1 são cruzados entre si para gerar indivíduos F2, os quais se recombinaram numa grande variedade de *loci* e serão utilizados nos estudos de ligação. Muitos destes indivíduos serão, então, genotipados para um grande número de marcadores polimórficos. Tal análise permitirá que se determine o modo de herança para cada alelo e também que se calcule a freqüência de recombinação entre dois marcadores. A associação entre um alelo herdado e o fenótipo da resistência, por exemplo, pode ser usada para identificar regiões cromossômicas que contenham genes presumivelmente responsáveis por tal fenótipo. Esta estratégia genética, a qual estuda a associação genótipo-fenótipo, não requer, a princípio, qualquer conhecimento prévio dos eventos bioquímicos que regem a interação hospedeiro-parasito.

Enfim, este tipo de mapa é ideal para linhagens de *B. glabrata*, cuja resistência é realmente controlada por um único gene. Há, no entanto, determinados estoques de caramujo em que a resistência parece ser controlada por mais genes. Diante deste cenário, a estratégia genômica para o estudo seria o desenvolvimento de um mapa de ligação de alta resolução, com marcadores moleculares polimórficos que possibilitariam, em seguida, o mapeamento dos QTLs. Este estudo depende das linhagens selecionadas para o primeiro cruzamento. Estas devem ter respostas radicalmente opostas à interação hospedeiro-parasito, ou seja, uma totalmente resistente ao parasito e a outra com alto grau de susceptibilidade. Estas duas linhagens são cruzadas e, então, os indivíduos F1 são intercruzados, gerando uma prole F2 que será genotipada por intermédio de um grande número de marcadores moleculares polimórficos. Uma vez detectados, os QTLs são localizados num mapa genético e a contribuição de cada um para o fenotípico observado é determinada. O mapeamento genético entre um marcador molecular e um QTL e a determinação do seu grau de influência no fenótipo estudado podem ser alcançados de várias formas, incluindo, análises de regressão (dados binários), modelo linear, mapeamento por intervalo genético e pelos métodos bayesianos. Tais métodos permitem estimar todos os parâmetros genéticos associados ao fenótipo de resistência: posição dos QTLs nos cromossomos, quantificação da variação genética fornecida por cada QTL e avaliação das interações entre os QTLs (Hoeschele et al., 1997). O mapeamento por intervalo genético talvez seja a estratégia mais útil neste caso. Para tanto, indivíduos F2 expostos a *S. mansoni* e

comprovadamente resistentes serão genotipados pelo maior número possível de marcadores moleculares polimórficos distribuídos por todo o genoma. Quanto maior for o grau de certeza dos indivíduos F2 resistentes, maior será o intervalo de confiança na localização do QTL em um cromossomo qualquer, avaliado de acordo com valores de LOD (logaritmo das chances). O LOD é um valor calculado a partir da comparação da probabilidade de dois *loci* estarem ligados com uma determinada freqüência de recombinação *versus* a probabilidade de que os dois *loci* não estejam ligados (freqüência de recombinação igual a 50%, ou seja, segregação independente). Esta estratégia não requer a existência de marcadores proximamente ligados ao caráter de interesse e o intervalo genético pode ser melhorado à medida que novos marcadores forem selecionados e genotipados, ou seja: os dados são aditivos.

Marcadores Moleculares

A construção dos dois tipos de mapas só é possível com a utilização de marcadores polimórficos gerados por meio de várias técnicas moleculares. Um dos usos mais importantes de marcadores de DNA não é seguir genes particulares de interesse em análises de segregação, mas, ao em vez disso, fornecer 'âncoras' que estão espaçadas em distâncias uniformes ao longo de cada cromossomo, no genoma. Juntos, esses *loci* âncoras podem ser usados para estabelecer mapas que podem ser usados para mapear rapidamente qualquer novo *locus* que seja de real interesse. Se o número de *loci* âncoras for suficiente, será necessário apenas um único cruzamento para se poder posicionar um determinado *locus* no mapa. O objetivo da existência desses *loci* é marcar pontos particulares ao longo da molécula de DNA em cada um dos cromossomos, num genoma. Os *loci* cujas posições são conhecidas e que podem ser utilizados em análises de ligação são chamados de marcadores genéticos.

Existem alguns critérios que definem *loci* âncoras perfeitos:

- o primeiro diz que o nível de polimorfismo deve ser extremamente grande, a ponto de existirem grandes chances de que dois cromossomos homólogos quaisquer numa espécie carreguem alelos diferentes;
- o segundo diz que a identificação desses *loci* deve ser fácil, de modo que o estudo em qualquer espécie permita a identificação de um conjunto apropriado de âncoras.
- por último, os *loci* devem ser abundantes, fáceis e rápidos de serem tipados, mesmo num grande número de indivíduos.

MICROSSATÉLITES OU SEQÜÊNCIAS DE REPETIÇÕES SIMPLES

No início dos anos 1990 surgiu um elemento genômico com um conteúdo altamente polimórfico, presente em alta densidade por todo o genoma de vários organismos, tanto os vertebrados como os invertebrados, de fácil análise e rápida tipagem: os microssatélites (Rhodes, 1998). O genoma humano e o de camundongo estão repletos de microssatélites, que nada mais são do que repetições simples em *tandem* de um pequeno fragmento de um a seis nucleotídeos. Na verdade, o fragmento de um a quatro nucleotídeos caracteriza a maioria dos microssatélites mapeados, cujo tamanho, segundo alguns autores, pode ser variável. Alguns definem como repetições em *tandem* de 2-8 pares de bases, outros como repetições

de 1-6 pb ou mesmo 1-5 pb. A maioria dos microssatélites está localizada dentro de regiões não codificantes ou mesmo seqüências intergênicas e correspondem a marcadores anônimos.

O termo *simple sequence length polymorphisms* – SSLP, polimorfismo no comprimento de seqüências simples é utilizado para definir os marcadores microssatélites. Sugere-se um tamanho mínimo total de oito nucleotídeos para uma seqüência microssatélite e adota-se uma definição estrita de que eles contêm entre dois e seis nucleotídeos de comprimento nas unidades repetitivas.

Já foram identificados microssatélites contendo todas as combinações de nucleotídeos, sendo geralmente a classe do dímero $(CA)_n(GT)_n$ a mais encontrada nos genomas. O número de repetições em cada sítio cromossômico é estável dentro de uma linhagem isogênica, mas é variável entre as linhagens, de modo que o comprimento pode ser usado como um marcador molecular conhecido como um SSLP. Essas seqüências simples são flanqueadas por segmentos de DNA específicos para cada uma. Desse modo pode-se amplificar cada uma das seqüências, utilizando-se iniciadores específicos para as seqüências flanqueadoras únicas, por uma reação em cadeia da polimerase (PCR). De fato, sem a PCR, a maioria dos microssatélites seria inútil como marcadores genéticos. A variação alélica dos microssatélites está relacionada ao número de unidades repetitivas presentes num arranjo em *tandem*. O maior problema no uso dos microssatélites é que, para cada espécie para qual se desejar construir um mapa de ligação se terá que, *a priori*, isolar novos microssatélites, pois, na maior parte das vezes, eles são espécie-específicos. Entretanto, em várias ocasiões microssatélites isolados para uma determinada espécie puderam ser utilizados em outras espécies taxonomicamente próximas. Vários dos microssatélites que foram isolados a partir do genoma de *B. glabrata* (Campbell et al., 2000) puderam ser amplificados na espécie africana *B. pfeifferi*, e o contrário também pôde ser feito. Marcadores tipo microssatélite mostraram que populações de *B. glabrata* pertencentes ao lago de Valência (Venezuela) apresentam maior diversidade genética intrapopulacional do que interpopulacional, sugerindo uma influência da conexidade entre populações nos níveis de diversidade genética (Malvárez et al., 2002).

MARCADORES ALEATÓRIOS

Vários mapas de ligação foram construídos usando-se marcadores aleatórios como, por exemplo, os *Randomly Amplified Polymorphic DNA* (Rapd) – polimorfismo de DNA amplificado ao acaso. Esta metodologia baseia-se na obtenção de polimorfismo de DNA amplificado aleatoriamente. Sendo aleatória, não requer o conhecimento prévio das seqüências de DNA e conseqüentemente não necessita de iniciadores específicos. Estes polimorfismos são produzidos pela amplificação do DNA pela PCR, usando-se iniciadores pequenos sob condições de baixa estringência de anelamento (Willians et al., 1990; Welsh & Mcclelland, 1990). Um único iniciador é utilizado em cada reação e os fragmentos obtidos são específicos para este iniciador, sendo decorrentes de ligações distribuídas ao acaso dentro do genoma. A ligação dos iniciadores a múltiplos sítios do genoma permite a amplificação de segmentos anônimos. Devido à baixa estrigência, é baixo o seu poder de reprodutibilidade.

Recentemente, dois marcadores (1.2 Kb e 1.0 kb) foram identificados, com a técnica de Rapd, em uma linhagem BS-90 resistente de *B. glabrata* (Knight et al., 1999). Analisando o genótipo de 54 indivíduos resistentes da geração F2 com os iniciadores OPM-04 e OPZ-11, foi possível detectar a presença de dois fragmentos. O fragmento de 1.2 kb estava presente em 90% dos descendentes resistentes; já o fragmento de 1.0 Kb estava presente em todos os indivíduos resistentes analisados. Verificou-se que estes marcadores

estavam ausentes em todos os caramujos susceptíveis da geração F2. Análises da seqüência dos marcadores de 1.2 Kb e 1.0 Kb mostraram que eles correspondem a regiões repetidas do genoma do caramujo e uma consulta feita no banco de dados revelou que apenas o marcador de 1.0 Kb possuía homologia com retrovírus.

A análise de Rapd no estudo de *B. tenagophila* susceptíveis e resistentes a S. *mansoni* demonstrou variações genéticas entre as duas linhagens, contudo não foi detectado nenhum marcador de resistência entre os indivíduos analisados (Abdel-Hamid et al., 1999).

Um outro tipo de marcador aleatório é chamado de AFLP, que combina a PCR com RFLP (polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição). Basicamente, o DNA genômico é digerido com duas enzimas de restrição (uma cortando raramente o genoma e outra mais comum), seguido da ligação de adaptadores às extremidades do DNA geradas pelas digestões, os quais são amplificados pela PCR usando iniciadores que contêm a seqüência comum do adaptador mais 1-3 nucleotídeos arbitrários. Somente a população de fragmentos de restrição nas quais as bases sejam complementares aos nucleotídeos arbitrários será amplificada. Da mesma forma que o Rapd, o AFLP não requer o conhecimento prévio das seqüências estudadas, porém nesse caso as condições de amplificação são mais estringentes e os resultados obtidos são facilmente reproduzidos.

EXPRESSED SEQUENCE TAGS (EST) – ETIQUETAS DE SEQÜÊNCIAS TRANSCRITAS OU EXPRESSAS

As EST são seqüências pequenas (< 750 pb) geradas a partir de bibliotecas de cDNA (Adams, Kelley & Gocayne, 1991). Em geral, iniciadores são desenhados a partir das extremidades 5' e 3' dos cDNAs e cada par destes corresponde a um gene. Os dados de EST são versáteis e têm sido aplicados na identificação de genes, na análise comparativa de seqüências (Makalowski & Boguski, 1998), no mapeamento gênico comparativo e identificação de genes candidatos a algum fenótipo estudado (Scharf, 1998), na anotação da seqüência genômica (Bailey, Searls & Overton, 1999; Jiang & Jacob, 1999), no desenvolvimento de *microarray* (Schena et al., 1999) e no desenvolvimento de recursos de mapa baseados em genes (Schuler et al., 1996). Pesquisadores demonstraram a ocorrência de RFLP entre caramujos resistentes e susceptíveis mediante o uso de ESTs como sondas moleculares (Knight et al., 1998). Duas bibliotecas de cDNA foram construídas a partir dos hemócitos de uma linhagem resistente de *B. glabrata* exposto e não exposto a *S. mansoni* (Raghavan et al., 2003). A partir destas duas bibliotecas, o grupo gerou 1.025 ESTs. Algumas classes gênicas como, por exemplo, ubiquitina, ferritina, citocromo p450 foram comuns às duas bibliotecas. Naquela biblioteca elaborada a partir de hemócitos expostas a *S. mansoni* foi encontrada uma abundância de transcritos envolvidos com os processos de transcrição e tradução, como as proteínas ribossomais e proteínas de iniciação da transcrição. Porém, também foram encontrados transcritos únicos como o fator de agregação amebóide, mucina e transposase. Já na biblioteca construída a partir dos caramujos não expostos, os transcritos mais proeminentes foram os citocromos oxidase, citocromo b, glicoproteína e proteínas neuronais, entre outros.

SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM (SNP) – POLIMORFISMO DE NUCLEOTÍDEO ÚNICO

Um último tipo de marcador que vem sendo utilizado naqueles genomas cujas seqüências são quase ou totalmente conhecidas é o *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) – polimorfismo de nucleotídeo único.

Os SNPs correspondem a diferenças de uma única base numa determinada população. Estes marcadores são abundantes, estáveis e os que mais variam no genoma. Eles são responsáveis por 90% da variação da seqüência em humanos e ocorrem em, aproximadamente, um em cada mil pares de bases em cada dois indivíduos (Wang et al., 1998). Cada SNP tem apenas dois alelos possíveis, comparado aos microssatélites que são hipervariáveis. Entretanto, sua abundância e densidade são tão altas que os tornam potencialmente mais informativos que qualquer outro marcador molecular.

O MAPA GENÉTICO E A PROCURA DE GENES DA RESISTÊNCIA

Assim que uma região cromossômica contendo um ou mais QTL é identificada, a estratégia da clonagem posicional pode ser evocada para se tentar chegar ao gene. A estratégia da clonagem posicional (Cargill et al., 1999), também chamada genética inversa ou reversa (Collins, 1992; Ruddle, 1984; Orkin, 1986), consiste em se isolar um gene identificado unicamente por um fenótipo, por exemplo o caráter resistência, por meio da identificação do menor fragmento de DNA que o contenha e, em seguida, identificarem-se, nesse fragmento, suas seqüências codificadoras. Para essa estratégia, *a priori*, não se faz necessário um conhecimento prévio do produto do gene procurado nem do tecido em que ele esteja expresso. Entretanto, fica claro que, quanto menos informações se tiver do gene procurado, mais a tarefa da clonagem promete ser difícil e longa.

A clonagem posicional de um gene acontece em três etapas. Em um primeiro momento, se efetua o mapeamento genético do fenótipo estudado, ou seja, se localiza o cromossomo que carrega o lócus responsável pelo caráter. Para tanto, na grande maioria das vezes, precisa-se efetuar cruzamentos especiais para se alcançar tal objetivo. Esse cruzamento envolve a linhagem na qual o fenótipo esteja segregando e uma outra, a fim de se mobilizar um alto grau de polimorfismo, essencial ao trabalho de mapeamento. Nessa fase, tenta-se encontrar os dois marcadores mais próximos do lócus mórbido e calcula-se a distância genética (centiMorgan, cM) que os separa.

Desde que se tenha conseguido restringir ao máximo o intervalo genético que contenha a mutação, começa, então, o que é chamado de 'marcha sobre o cromossomo'. Nessa etapa, irá se construir o mapa físico da região cromossômica estudada. Para tanto, fragmentos de DNA clonados nos BAC ou YAC são alinhados uns após os outros, formando o que se costuma denominar de um *contig* da região. A caracterização desse *contig* define a construção do mapa físico, em que as distâncias entre os marcadores serão medidas em pares de bases de nucleotídeos. As extremidades do *contig* correspondem aos dois marcadores que englobam o lócus responsável pelo fenótipo, definido pelo estabelecimento do mapa genético concluído na primeira etapa do trabalho de clonagem posicional.

Enfim, passa-se à fase de recuperação das seqüências codificadoras contidas no DNA do *contig*. Essas seqüências são, em seguida, caracterizadas para que se possa definir o perfil de um gene que será, então, o gene candidato.

Uma outra estratégia no intuito de isolar o ou os genes envolvidos na resistência do caramujo, o qual se chamará de estratégia alternativa, refere-se ao estudo da expressão gênica mediante o isolamento do mRNA. Neste caso, o mapeamento genético não seria a primeira etapa do trabalho, mas um complemento deste.

ANÁLISE COMPARATIVA DA EXPRESSÃO GÊNICA

Vários métodos podem ser utilizados no estudo comparativo da expressão gênica como, por exemplo:

- técnicas de hibridização subtrativa;
- seqüenciamento;
- análise seriada da expressão gênica (Sage);
- *differential display* (DD);
- *cDNA representational difference analysis* (cDNA RDA);
- *microarray*.

Pode-se classificar estes métodos entre 'baseados na PCR' e os 'não baseados na PCR', sendo estes últimos mais onerosos, pois além de consumirem mais material, são mais demorados. Neles pode-se incluir a hibridização e a clonagem subtrativa, o *Northern blot* e a sondagem de bibliotecas de cDNA. Apesar destas dificuldades alguns pesquisadores conseguiram obter resultados interessantes na busca dos genes envolvidos com o caráter resistência. Pesquisadores construíram uma biblioteca de cDNA enriquecida com seqüências de uma linhagem de *B. glabrata* resistente (Miller et al., 1996). Por intermédio de hibridizações sucessivas com material de indivíduos resistentes e susceptíveis, seguidas da clonagem do cDNA não hibridizado, eles conseguiram isolar dois transcritos que mostraram expressão elevada nos caramujos resistentes.

Duas técnicas de análise diferencial da expressão gênica são baseadas na PCR: cDNA RDA e DD.

Resumidamente, a RDA envolve a síntese de cDNA a partir de duas populações de RNA (controle e testado ou experimental). Em seguida, as duas classes de RNA são digeridas, aos fragmentos gerados pela ação das enzimas de restrição são ligados adaptadores e segue-se uma PCR com iniciadores complementares às seqüências dos adaptadores. As duas populações de cDNA são hibridizadas em presença de um excesso da população-controle e, então, reamplificadas para aumentar a concentração do material proveniente da população de cDNA testada. Da mesma forma que na hibridização subtrativa, o RDA também só possibilita a comparação de duas classes de mRNA, ou seja, resistente e susceptível. Não se pode fazer um estudo comparativo envolvendo vários tecidos, em diferentes períodos de desenvolvimento, de linhagens resistentes e susceptíveis não expostas e expostas ao parasito etc. Alguns desses problemas puderam ser resolvidos com o desenvolvimento de técnicas baseadas na comparação diferencial da expressão gênica como, por exemplo, a técnica do *differential display* detalhada a seguir.

Técnicas de perfil de RNA como *differential display* e PCR utilizando iniciadores arbitrários proporcionam análises mais detalhadas de expressão gênica em caramujos. Atualmente esta técnica vem sendo muito explorada para se investigar a interação parasito-hospedeiro (Liang & Pardee, 1992). Ela consiste primeiramente em converter o mRNA de dois ou mais indivíduos em cDNA por meio de uma transcriptase reversa. Nesta fase utiliza-se também um iniciador oligo (dT) modificado que tem um único nucleotídeo ou um dinucleotídeo diferente na extremidade 3', fazendo com que ele se ligue à cauda poli (A). No segundo passo, utiliza-se um outro iniciador de seqüência curta e arbitrária, o qual será o responsável pela amplificação dos fragmentos de cDNA. Em seguida os padrões de amplificação resultantes são projetados deliberadamente para produzirem um espectro de bandas, após serem submetidos a uma

eletroforese em um gel de poliacrilamida longo. Diferenças nas bandas de amplificação entre as fontes de RNA comparadas indicam expressão diferencial. Apesar de o método tender a indicar resultados falso-positivos, pode ser útil na clonagem de genes expressos diferencialmente em duas ou mais populações analisadas. Com esse objetivo, bandas específicas de PCR presentes em uma amostra, mas ausentes em outra, são isoladas do gel e o DNA é submetido a ciclos adicionais de PCR. Posteriormente estas bandas podem ser seqüenciadas ou submetidas a hibridização por substrato.

O *differential display* tem sido utilizado para se identificar mudanças na expressão gênica de *B. glabrata* após a infecção com *S. mansoni*. O primeiro trabalho realizado neste sentido foi com a cepa 1.778 de *B. glabrata* (Belo Horizonte), que apresenta 70% de resistência quando expostos a *S. mansoni* (Lockyer et al., 2000). Após se extrair o RNA total do ovotéstis, manto e nefrídio anterior do grupo-controle (caramujos que não foram infectados) e do grupo de caramujos com quatro e 24 horas de infecção e transformá-los em cDNA e compará-los, observou-se que havia uma mudança de expressão num determinado fragmento. Este fragmento foi então seqüenciado e o mesmo apresentou homologia com o citocromo cyp450. Entretanto, este mesmo gene apresentou baixa regulação após 24 horas de infecção em vários tecidos. Para se confirmar a expressão diferencial do cyp450 foi realizada uma RT-PCR semiquantitativa (*semi-quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction*). Desta forma, foi observado que realmente ocorre uma expressão diferencial entre os indivíduos infectados e não infectados. O citocromo P450s, conhecido como monoxigenases inespecíficas, faz parte de uma grande família de proteínas hemetiolatos. Estas estão envolvidas nos metabolismos oxidativos de esteróides, ácidos graxos, vitaminas e prostaglandinas. Em casos humanos de esquistossomose mansoni nota-se um decréscimo nos níveis de cyp450 no fígado (Habid et al., 1996); no entanto, não foi elucidada sua função em *B. glabrata*. Vários fragmentos de perfis de DD, cuja expressão aparentemente foi alterada após exposição ao miracídio, foram detectados por RT-PCR (Knight, Ongele & Lewis, 2000). Essas seqüências tiveram homologia com seqüências já depositadas no GenBank e foram uma metaloprotease, uma transcriptase reversa e uma ß-integrina. Com o intuito de realizar um estudo mais detalhado a respeito dos genes que se expressaram após a infecção, Knight, Ongele & Lewis (2000) monitoraram todo o período de infeção desde as primeiras horas até o final do período pré-patente. Desta forma foi possível observar que alguns transcritos, visualizados em formas de bandas, desapareciam logo após a exposição ao miracídio, enquanto outras bandas eram expressas durante outros estádios do desenvolvimento do parasito intramolusco. Após o período pré-patente, as 22 bandas que foram expressas diferenciadamente foram clonadas e a seguir processadas com sondas específicas do parasito e do caramujo. Parte das bandas que foram clonadas hibridizou-se tanto com o DNA do caramujo como também com o do parasito. Uma das bandas que apresentava 370 bp e que foi expressa na segunda semana de infecção apresentou 82% da sua seqüência idêntica ao fator de iniciação da tradução *elF-6*. O papel deste gene na interação parasito-hospedeiro está sendo estudado.

O *differential display* foi também utilizado para se identificar diferenças na regulação gênica de hemócitos isolados de uma linhagem resistente de *B. glabrata* (BS-90) expostos e não expostos a *S. mansoni* (Miller et al., 2001). Analisando o perfil de cDNA entre hemócitos de caramujos infectados e não infectados observou-se que 87 bandas foram expressas diferencialmente. Dessas, 65 bandas foram clonadas e usadas como sondas, com base na metodologia de *Southern blot*, para mostrar se realmente as seqüências correspondiam ao genoma do caramujo. Análises da seqüência de DNA mostraram que a maioria das seqüências clonadas

eram desconhecidas. Alguns clones apresentavam similaridade com proteína pGI humana, proteínas envolvidas na síntese de lipopolissacarídeos e glicoproteínas ricas em histidina/prolina (HRGP). O clone denominado BRIDD58 foi o único que apresentou uma forte similaridade para Tn5 transposase de *E. coli*. O papel desta enzima no caramujo não está bem claro; sabe-se que em bactérias ela está envolvida na transposição e mutação. Um outro trabalho feito também com hemócitos de caramujos susceptíveis e resistentes, expostos e não expostos a *S. mansoni*, isolou vários fragmentos diferentemente expressos (Schneider & Zelck, 2001). A maior parte das seqüências isoladas pertencia a classes de RNA ribossomais. Entretanto, seis delas (serina/treonina quinase, mioglobina, peroxidade, molécula de adesão leucicitária, defensivo neurotrófico e glicosidase) parecem ser interessantes e serão analisadas em detalhes, futuramente.

ABORDAGENS BASEADAS NA SEQÜÊNCIA

Progressos na caracterização do genoma de *B. glabrata* têm sido feitos com geração de etiquetas de seqüência expressas (ESTs) a partir de bibliotecas de cDNA. Isto rapidamente gerou um banco de dados contendo seqüências e fontes de clones consideráveis, sendo valiosa fonte de pesquisa. Muitas das ESTs identificadas são novas, impedindo a elucidação de sua função somente por homologia com outros genes caracterizados em diferentes organismos. Um uso potencial deste recurso constará na comparação *in silico* de bancos de dados de ESTs para identificação de transcritos diferentemente expressos, sendo que este método necessitará de dados representativos extraídos de cDNAs de diversos tecidos amostrados, além de um banco de dados específicos de cDNAs expressos em infecções parasito-específicas.

Uma segunda abordagem na investigação da expressão de mRNAs do caramujo seria a Sage, que é mais útil para estudos de perfil de expressão de genes totalmente seqüenciados e permite uma análise simultânea de seqüências de diferentes tecidos. A técnica envolve a geração de etiquetas de seqüências únicas para cada cDNA. Estas etiquetas são então ligadas em longos concatâmeros e seqüenciadas. Estas seqüências são longas o suficiente para identificar cada gene específico no banco de dados. Quanto maior o nível de expressão de um gene, maior sua representação nos dados disponíveis. Populações diferentes de cDNAs podem ser comparadas para se determinar diferenças absolutas e relativas na expressão dos genes de interesse. Sage é um método de alto rendimento, mas que requer grandes quantidades de mRNA (2,5-5,0 ug poli A), embora novos protocolos tenham reduzido esta quantidade. A maior desvantagem deste método é que ele permite a análise apenas de EST ou genes seqüenciados, tornando-o um método inapropriado para a análise da expressão gênica no caramujo. A técnica se tornará uma real possibilidade à medida que mais seqüências enriquecerem o banco de dados para *B. glabrata*.

Como se pode observar, inúmeras estratégias moleculares têm sido utilizadas para identificar regiões, no genoma do caramujo, associadas com o fenótipo resistência; futuramente, outras tecnologias, tais como *microarray*, proteoma, espectometria de massa também serão aplicadas na investigação da interação *Biomphalaria-S. mansoni*.

PERSPECTIVAS

Estudos da dinâmica populacional entre populações resistentes e susceptíveis de *B. tenagophila* submetidas ou não à pressão de *S. mansoni* mostrou que houve um predomínio da linhagem resistente e

que a população susceptível mostrou-se mais sensível à presença do parasito, apresentando elevadas taxas de mortalidade (Rosa et al., 2006). Visto que a transmissão do caráter resistência em *B. tenagophila* é dominante e tomando como base os mais de 27 anos de estudo com a linhagem resistente *B. tenagohila* Taim, o grupo de pesquisadores neste assunto propõe um modelo de controle biológico para controle da esquistossomose. A idéia seria a introdução em larga escala da linhagem resistente em áreas onde *B. tenagophila* seja a principal espécie transmissora. Como *Biomphalaria* tem preferência pela fecundação cruzada (Paraense, 1955), é de se esperar que, após a redução drástica da população local do foco de transmissão, por exemplo após o uso de moluscicida, a introdução em larga escala da linhagem Taim resistente forçará os sobreviventes ao cruzamento com a linhagem introduzida. Os descendentes terão o desejado caráter dominante de resistência ao parasito e herdarão também a capacidade adaptativa ao ambiente local de seus ascendentes locais. A presença de *S. mansoni* nos caramujos susceptíveis representa uma parasitose com efeitos devastadores, pois causa alta mortalidade nos caramujos infectados e diminui a postura de ovos, constituindo-se assim um elemento de seleção natural altamente negativo para os caramujos potencialmente transmissores da doença. A expectativa é que, ao longo do tempo, por pressão seletiva da ação do próprio *S. mansoni*, haja a predominância de exemplares com o patrimônio genético da resistência ao trematódeo. Outro aspecto importante a ser levantado é o fato de ter se conseguido um marcador molecular que é típico da linhagem do Taim e servirá para demonstrar o sucesso da inserção do patrimônio genético da linhagem do Taim na população, após intervenção.

Um convênio foi firmado entre o Centro de Pesquisa René Rachou/Fiocruz, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e a Superintendência de Controle de Endemias do Estado de São Paulo (Sucen). Este projeto já está em andamento nos municípios de Caraguatatuba e Bananal, no estado de São Paulo, e foi autorizado pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente (número da autorização 175/DIF/Difap/Ibama).

REFERÊNCIAS

ABDEL-HAMID, A. H. Z. et al. Genetic variation between susceptible and non-susceptible snails to *Schistosoma mansoni* infection using random amplified polymorphic DNA analysis (RAPDs). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 41: 291-295, 1999.

ADAMS, M. D.; KELLEY, J. M. & GOCAYNE, J. D. Complementary DNA sequencing: expressed sequence tags and human genome projetc. *Science*, 252: 1651-1656, 1991.

BAILEY JR., L. C.; SEARLS, D. B. & OVERTON, G. C. Analysis of EST-driven gene annotation in human genomic sequence. *Genome Research*, 8: 362-376, 1999.

BARBOSA, F. S. & BARRETO, A. C. Differences in susceptibility of Brazilian strains of *Australorbis glabratus* to *Schistosoma mansoni*. *Experimental Parasitology*, 9: 137-140, 1960.

CAMPBELL, G. et al. Molecular evidence supports an Africa affinity of tha neotropical freshwater gastropod, *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), an intermediate host for *Schistososma mansoni*. *Proceedings of the Royal Society of London*, *Series B*, 267: 2.351-2.358, 2000.

CARGILL, M. et al. Characterization of single polymorphisms in coding regions of human genes. *Nature Genetics*, 22: 231-237, 1999.

CHIEFFI, P. P. Susceptibilidade a infecção por *Schistosoma mansoni* de cepas de *Biomphalaria tenagophila* originárias dos estados de São Paulo e Paraná. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 17: 92-96, 1975.

COELHO, P. M. Z. et al. *Biomphalaria tenagophila/Schistosoma mansoni* interaction: current knowledge and perspectives for its application on the control of schistosomiasis mansoni. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99, supl. 1: 109-111, 2004.

COLLINS, P. Positional cloning: let's not call it reverse anymore. *Nature Genetics*, 1: 3-6, 1992.

CORRÊA, M. C. R.; COELHO, P. M. Z. & FREITAS, J. R. Susceptibilidade de linhagens de *Biomphalaria tenagophila* e *Biomphalaria glabrata* a duas cepas de *Schistosoma mansoni* – (LE – Belo Horizonte – MG e SJ – São José dos Campos – SP). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo,* 21: 72-76, 1979.

FILES, V. S. & CRAM, E. B. A study on the comparative susceptibility of snail vectores to strains *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology*, 35: 555-560, 1949.

FREITAS, J. R.; BOSCHI, M. B. & SANTOS, M. B. L. Suscetibilidade de 'híbridos' de *Biomphalaria tenagophila* à cepa LE (BH) do *Schistosoma mansoni. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 1: 6-12, 1985.

HABID, S. L. et al. Influence of *Schistosoma mansoni* infetion on carcinogen-metabolising capacities and in vitro aflatoxin B1 metabolism in human liver. *Oncology Reports*, 3: 769-773, 1996.

HOESCHELE, I. et al. Advances in statistical methods to map quantitative trait loci in outbred populations. *Genetics*, 147: 1.445-1.457, 1997.

JIANG, J. & JACOB, H. J. E. B. EST: an automated tool using expressed sequence tags to delineate gene structure. *Genome Research*, 8: 268-275, 1999.

JONES, C. S. et al. Molecular approaches in the study of *Biomphalaria glabrata- Schistosoma mansoni* interactions: linkage analysis and gene expression profiling. *Parasitology,* 123: 181-196, 2001.

KNIGHT, M.; ONGELE, E. & LEWIS, A. F. Molecular studies of *Biomphalaria glabrata*, an intermediate host of *Schistosoma mansoni*. *International Journal for Parasitology*, 30: 525-541, 2000.

KNIGHT, M. et al. Expressed sequence tags (ESTs) of *Biomphalria glabrata*, an intermediate host for *Schistosoma mansoni*: use in the identification of RFLP markers. *Malacology*, 39: 175-182, 1998.

KNIGHT, M. et al. The identification of markers segregations with resistence to *Schistosoma mansoni* infection in the snail *Biomphalaria glabrata*. *Proceedings National Academy of Sciences United State of America*, 96: 1.510-1.515, 1999.

KUNTZ, R. E. Exposure of planorbid snails from the Western Hemisphere to miracidia of the Egyptian strain of *Schistosoma mansoni*. *Proceeding of Helmintology Society of Washington*, 19: 9-15, 1952.

LEWIS, A. F.; PATTERSON, C. N. & GRZWACZ, C. Parasite- susceptibility phenotypes of F1 *Biomphalaria glabrata* progeny derived from interbreeding *Schistosoma mansoni*-resistant and susceptible snails. *Parasitology Research*, 89: 98-101, 2002.

LIANG, P. & PARDEE, A. B. Differential display of eukariotic messenger RNA by means of the polymerase chain reaction. *Science*, 257: 967-971, 1992.

LOCKYER, A. E. et al. Use of differential display to detect changes in gene expression in the intermediate snail *Biomphalaria glabrata* upon infection with *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 20: 399-407, 2000.

MAKALOWSKI, W. & BOGUSKI, M. S. Evolutionary parameters of the transcribed mammalian genome: an analysis of 2820 orthologous rodent and human sequences. *Proceedings National Academy of Sciences United State of America*, 95: 9.407-9.412, 1998.

MALVÁREZ, M. et al. Fine- Scale population structure and dispersal in *Biomphalaria glabrata*, the intermediate snails host of *Schistosoma mansoni*, in Venezuela. *Molecular Ecology*, 11: 879-889, 2002.

MILLER, A. N. et al. *Schsistosoma mansoni*: use of the subtrative cloning strategy to search for RFLPs in parasite resistant *Bimphalaria glabrata*. *Experimental Parasitology*, 84: 420-428, 1996.

MILLER, N. A. et al. Differential gene expression in haemocytes of the snail *Biomphalaria glabrata* effects of *Schistosoma mansoni* infection. *International Journal for Parasitology*, 31: 687-696, 2001.

NEWTON, W. L. The inheritance of susceptibility to infection with *Schistosoma mansoni* in *Australorbis glabratus*. *Experimental Parasitology*, 2: 242-257, 1952.

ORKIN, S. H. Reverse genetics and human disease. *Cell*, 47(6): 845-850, 1986.

PARAENSE, W. L. Autofecundação e fecundação cruzada em *Australorbis glabratus. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 53: 277-284, 1955.

PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. Variation in susceptibility of populations of *Australorbis glabratus* to a strain of *Schistosoma mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 5: 15-22, 1963a.

PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. Susceptibility of *Australorbis tenagophilus* to infection with *Schistosoma mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 5: 23-29, 1963b.

PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. Differential susceptibility of *Biomphalaria tenagophila* populations to infection with a strain of *Schistosoma mansoni. The Journal of Parasitology*, 64: 822-826, 1978.

PARAENSE, W. L. & CORRÊA, L. R. Probable extension of schistosomiasis mansoni to southern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82: 577, 1987.

RAGHAVAN, N. et al. Comparative gene analysis of *Biomphalaria glabrataa:* hemocytes pre- and post-exposure to miracidia of *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 126: 181-191, 2003.

RHODES, M. A high-resolution microsatellite map of the mouse genome. *Genome Research,* 8(5): 531-542, 1998.

RICHARDS, C. S. Genetic studies of a molluscan vector of schistosomiasis. *Nature*, 227: 806-810, 1970.

RICHARDS, C. S. Susceptibility of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Planorbidae). *Malacology*, 6: 199-202, 1973.

RICHARDS, C. S. Genetic factors in susceptibility of *Biomphalaria glabrata* for different strains of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 70: 231-241, 1975.

RICHARDS, C. S. & MERRITT JR., J. W. Genetic factors in the susceptibility of juvenile *Biomphalaria glabrata* to *Schistosoma mansoni* infeccction. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 21: 425-434, 1972.

RICHARDS, C. S. & SHADE, P. C. The genetic variation of compatibility in *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni* infection. *The Journal of Parasitology*, 73: 1146-1151, 1987.

RICHARDS, C. S.; KNIGHT, M. & LEWIS, F. A. Genetics of *Biomphalaria glabrata* and its effect on the outcome of *Schistosoma mansoni* infection. *Parasitology Today*, 8: 171-174, 1992.

ROSA, F. M. et al. Dominant character of the molecular marker of *Biomphalaria tenagophila* (Mollusca: Planorbidae) strain, resistant to *Schistosoma mansoni. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99: 85-87, 2004.

ROSA, F. M. et al. *Biomphalaria tenagophila*: dominant character of the resistance to *Schistosoma mansoni* and descendants of cross-breeding between resistant (Taim, RS) and susceptible (Joinville, SC) strains. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100(1): 19-23, 2005.

ROSA, F. M. et al. *Biomphalaria tenagophila*: dynamics of populations of resistant and susceptible strains to *Schistosoma mansoni*, with or without pressure of the parasite. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101, supl. 1: 247-251, 2006.

RUDDLE, F. H. The William Allan memorial award address: reverse genetics and beyond. *American Journal of Human Genetics*, 36: 944-953, 1984.

SANTOS, M. B. L.; FREITAS, J. R. & CORREIA, M. C. R. Suscetibilidade ao *Schistosoma mansoni* de hibridos de *Biomphalaria tenagophila* do Taim, RS, Cabo Frio, RJ, e Belo horizonte, MG. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*; 21(6): 281-286, 1979.

SCHARF, J. M. Identification of a candidate modifying gene for spinal muscular atrophy by comparative genomics. *Nature Genetics*, 20: 83-86, 1998.

SCHENA, M. et al. Microarrays: biotechnology's discovery platform for functional genomics. In: MARRA, M. et al. An encyclopedia of mouse genes. *Nature*, 21: 191-194, 1999.

SCHNEIDER, O. & ZELCK, U. E. Differential display analysis of hemocytes from schistosome-resistant and schistosome-susceptible intermediate hosts. *Parasitology Research*, 87:489-491, 2001.

SCHULER, G. D. et al. A gene map of the human genome. *Science*, 274: 540-546, 1996.

WANG, D. G. et al. Large-scale identification, mapping and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science*, 280: 1.077-1.082, 1998.

WELSH, J. & MCCLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleid Acids Research*, 18: 7.213-7.218, 1990.

WILLIANS, J. G. K. et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleid Acids Research*, 18: 6.531-6.535, 1990.

17 Técnicas Utilizadas no Estudo dos Moluscos do Gênero *Biomphalaria* e na Manutenção do Ciclo de *Schistosoma mansoni*

Liana Konovaloff Jannotti-Passos
Roberta Lima Caldeira
Omar dos Santos Carvalho

Infecção de camundongo
com cercárias de *Schistosoma mansoni.*

Neste capítulo serão apresentadas técnicas utilizadas na rotina do Moluscário Lobato Paraense do Centro de Pesquisa René Rachou/Fiocruz, localizado em Belo Horizonte, Minas Gerais. Serão descritos os métodos de exame de moluscos para se detectar a presença de cercárias, as cercárias mais comuns encontradas em moluscos; o método de criação de moluscos em grande escala, a infecção individual e em massa de moluscos, técnica de perfusão e infecção de camundongos, processo de captura, embalagem, fixação e dissecação de moluscos. Estas técnicas auxiliarão pessoas interessadas em estudar o molusco, o parasito e a relação parasito-hospedeiro.

CRIAÇÃO DE MOLUSCOS

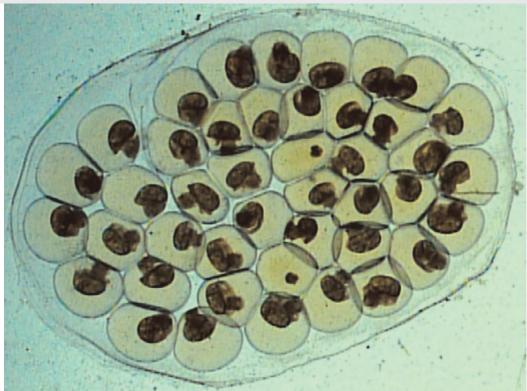
Os moluscos do gênero *Biomphalaria* podem ser criados em aquários com água corrente desclorada e aeração constante. No fundo dos aquários deve-se colocar terra esterilizada acrescida de 10% de carbonato de cálcio e pequena quantidade de areia. Como alimento pode se oferecer alface fresca lavada em água com 0,1% de ácido acético e ração de roedores peneirada, acrescida de 10% de carbonato de cálcio. A ração deve ser molhada para formar uma pasta, permitindo que a mesma concentre-se no fundo do aquário. A quantidade de alimento oferecida dependerá da quantidade de moluscos no aquário. O alimento deve ser oferecido pela manhã e, caso haja necessidade, também à tarde. Caso ocorra sobra de alimento no dia seguinte, o excesso deve ser retirado para evitar a formação de fungos. Os aquários devem ser providos de uma tampa para evitar que os moluscos fujam. A temperatura ideal da sala de criação deve ser de 24±1ºC (Figura 1).

Figura 1 – Criação de moluscos do gênero *Biomphalaria*

OBTENÇÃO DE OVOS *Biomphalaria*

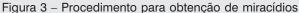
As desovas podem ser obtidas introduzindo-se pequenos pedaços (6 x 6 cm) de plástico, lavados em água corrente, nos aquários onde são mantidos moluscos adultos (Figura 2). Após a deposição da desova no plástico, este é removido com o auxílio de pinça e transferido para outros recipientes até o amadurecimento das desovas, o que, em uma temperatura de 24°C, ocorrerá entre quatro e cinco dias.

Após este período os ovos são contados, as desovas lavadas em água corrente e transferidas para um aquário. A quantidade de ovos dependerá do tamanho do aquário. Deve-se levar em conta que cerca de 20% dos ovos morrem antes de alcançar a fase adulta. A alimentação (ver seção anterior – criação de Molusco) deverá ser fornecida logo após a eclosão dos moluscos, sempre em pequenas quantidades para se evitar a formação de fungos.

Figura 2 – Desova de moluscos do gênero *Biomphalaria*, em saco plástico, após a deposição da desova no plástico

INFECÇÃO DE MOLUSCOS EM LABORATÓRIO

Obtenção dos Ovos de *S. mansoni*

Os ovos de *S. mansoni* são obtidos a partir de camundongos (*Mus musculus*) ou hamsters (*Mesocricetus auratus*) experimentalmente infectados com cercárias de *S. mansoni* e posteriormente sacrificados. Os fígados desses animais são triturados em liquidificador junto com solução salina a 0,85% (Pellegrino & Katz, 1968). Esta solução é transferida para um cálice, mantido no escuro por trinta minutos, e em seguida lavada sucessivas vezes com água desclorada até a solução ficar limpa. Despreza-se o sobrenadante e o sedimento contendo os ovos é transferido para placas de Petri, com água desclorada, ou para balão volumétrico escuro com a extremidade clara e mantido a 28°C, sob luz artificial, até a eclosão dos miracídios. Os miracídios nadam, concentrando-se na extremidade clara do balão volumétrico (Chaia, 1956) (Figura 3).

Figura 3 – Procedimento para obtenção de miracídios

Infecção Individual de Moluscos

Para infecção individual de moluscos são utilizadas placas de plástico branco, transparente, com 24 divisões cilíndricas com capacidade de 2,5 ml com tampa (placa utilizada para cultura de células). Em cada divisão deve ser introduzido um molusco, com aproximadamente 8 mm de diâmetro e adicionado de 2,5 ml de água contendo miracídios. O número de miracídios poderá variar de acordo com o experimento e a espécie de molusco. No início da exposição o material é examinado ao microscópio estereoscópico, para confirmação da presença de miracídios. Os moluscos são mantidos em contato com os miracídios por quatro horas, sob luz artificial (Figura 4), e posteriormente transferidos para aquários, com aeração constante e água corrente, desclorada e aquecida a 27±1°C. Decorridos trinta dias da infecção os moluscos são examinados para verificação da presença de cercárias.

Figura 4 – Infecção individual de moluscos

Infecção em Massa de Moluscos

Para a infecção de moluscos em massa utiliza-se um béquer, onde são colocados moluscos e uma suspensão contendo miracídios (Figura 5). A quantidade de miracídios a ser utilizada dependerá do experimento e da espécie de molusco. Os moluscos deverão permanecer nesta suspensão durante quatro horas, sob luz artificial, e em seguida transferidos para aquário com sistema de água corrente, aeração constante e temperatura controlada de 27±1°C. Decorridos trinta dias da exposição dos moluscos, estes podem ser examinados em microscópio estereoscópico para verificação da presença de cercárias.

Figura 5 – Infecção de moluscos em massa

EXAME DE MOLUSCOS

Por Estímulo Luminoso

Os moluscos são lavados em água desclorada, introduzidos, individualmente, em recipientes contendo 3 ml de água desclorada. A quantidade de água dependerá do tamanho do molusco, sendo o ideal cobri-los totalmente. Os moluscos deverão ser expostos por trinta minutos à luz artificial. Após este período são examinados em microscópio estereoscópico, observando-se a presença de cercárias na água. Os frascos contendo moluscos com cercárias de *S. mansoni* são separados e, no final, calculado a taxa de infecção (Figura 6).

Figura 6 – Exame de moluscos por estímulo luminoso

Por Esmagamento

Os moluscos são colocados entre duas placas de vidro e esmagados. O conjunto de placas é levado ao microscópio estereoscópico para pesquisa de cercárias e/ou esporocistos. Em seguida faz-se o cálculo da taxa de infecção (Figura 7).

- Cálculo da taxa de infecção:

$$\text{Taxa de infecção} = \frac{\text{n. de moluscos positivos x 100}}{\text{total de moluscos examinados}}$$

Figura 7 – Exame de molusco por esmagamento

MANUTENÇÃO DOS MOLUSCOS POSITIVOS E ELIMINAÇÃO DE CERCÁRIAS

Os moluscos positivos são transferidos para recipientes de vidro ou plástico e mantidos no escuro, dentro de uma incubadora a 25±0,5°C (Figura 8). Após 24 horas os moluscos são transferidos para uma estufa, com temperatura de aproximadamente 28°C, sob luz artificial, para eliminação de cercárias que serão utilizadas para infectar camundongos.

Figura 8 – Incubadora com aquários contendo os moluscos

INFECÇÃO E PERFUSÃO DE CAMUNDONGOS PARA OBTENÇÃO DOS VERMES

A infecção de camundongos é feita por injeção subcutânea pela inoculação de cem cercárias de *S. mansoni* (Figura 9). Após cinqüenta dias de infecção, os camundongos são sacrificados e perfundidos. A perfusão dos camundongos é feita após incisão na região ventral. O intestino é amarrado na altura do reto e a veia porta é seccionada. Em seguida injeta-se solução salina com heparina na artéria aorta, para retirada dos vermes adultos do intestino. Também se pode injetar solução salina no ápice do fígado, para recuperar os vermes localizados neste órgão (Pellegrino & Siqueira, 1956) (Figuras 10 e 11).

Figura 9 – Inoculação de cercárias em camundongo

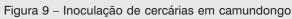



Figura 10 – Aparelho utilizado para perfusão de camundongos

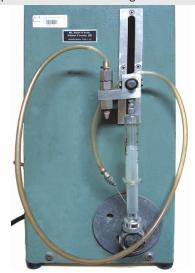
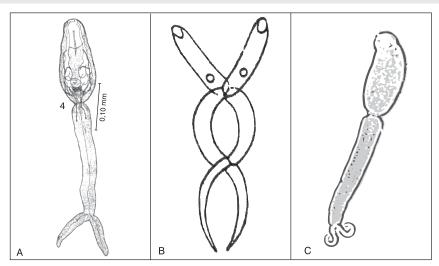



Figura 11 – Perfusão de camundongo

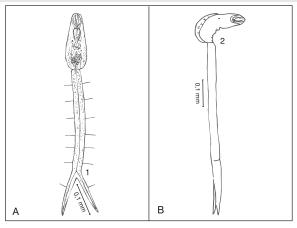
MORFOLOGIA DAS CERCÁRIAS

Os moluscos coletados no campo podem estar infectados com vários tipos de cercárias. As cercárias, com cauda bifurcada, comumente encontradas em moluscos são as de *S. mansoni* (Trematoda: Schistosomatidae), *Cercaria caratinguensis* (Trematoda: Strigeidae), *Cercaria ocellifera* (Trematoda: Clinostomatidae) e *Cercaria amplicoecata* (Souza & Lima, 1990).

As cercárias de *S. mansoni* possuem aproximadamente 0,51 mm, com furca menor que o corpo (Figura 12A), e movimentam-se ativamente em forma do numeral oito (Figura 12B). Quando paradas, contraem o corpo e a cauda, apresentando enrolamento característico das furcas (Figura 12C).

Figura 12 – Cercária de *Schistosoma mansoni*. (A) Cercária, desenho em câmara clara; (B) Cercária em movimento em forma de numeral oito; (C) Fotomicrografia da cercária de *Schistosoma mansoni* mostrando o enrolamento das furcas

Fonte: (A); (B); (C) Souza & Lima (1990).

Cercaria ocellifera possui aproximadamente 0,75 mm de comprimento. Estas cercárias possuem um par de ocelos pigmentados. O corpo é estreito e curto em relação à cauda, que é longa (três a quatro vezes maior que o corpo), bifurcando-se na extremidade posterior (Figura 13A). Possui movimento semelhante às cercárias de *S. mansoni*; entretanto, quando em repouso o corpo fica inclinado ventralmente e a cauda fica reta, com as furcas entreabertas (Figura 13B).

Figura 13 – *Cercaria ocellifera*. (A) em repouso; (B) de perfil

Fonte: Souza & Lima (1990).

Cercaria caratinguensis possui aproximadamente 0,49 mm de comprimento, tem a furca longa, do mesmo tamanho ou maior que o corpo (Figura 14). Esta cercária é muito ativa, apresentando movimentos ondulatórios, vez por outra formando um numeral oito; quando parada, a furca se abre em forma de letra T. Outra cercária bifurcada é a *Cercaria amplicoecata*, que possui aproximadamente 0,7 mm de comprimento, corpo alongado e estreito, cauda uniforme, com furca longa achatada lateralmente. O comprimento aproximado da furca é igual ao da cauda ou ligeiramente maior. Movimenta-se bruscamente, alternando movimentos em oito e paradas em forma de letra T (Figura 15).

Figura 14 – *Cercaria caratinguensis*

Fonte: Souza & Lima (1990).

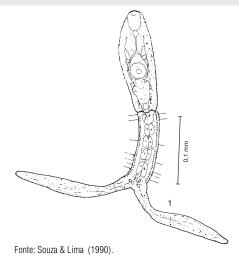
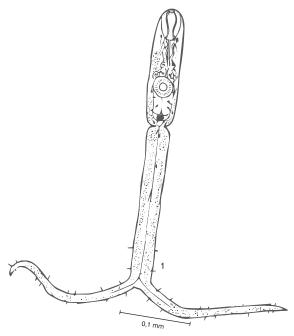



Figura 15 – *Cercaria amplicoecata*

Fonte: Souza & Lima (1990).

PROCEDIMENTOS DE CAPTURA, EMBALAGEM E FIXAÇÃO DE MOLUSCOS

Captura de Moluscos

A procura de moluscos deve ser feita observando-se as características de cada coleção d'água. Em criadouros como lagoas e açudes os moluscos podem ser encontrados aderidos a pedras, objetos flutuantes, junto às plantas aquáticas que lhes servem de alimento, ou no fundo dos criadouros. As plantas aquáticas comumente encontradas em criadouros são: *Eichhornia crassipes* (aguapé, baronesa); *Salvinia natans* (ou lentilha d'água); *Heteranthera reniformis* (heterantera), *Vallisneria spiralis* (valisneria); *Myriophyllum spicatum* (pinheirinho); *Elodea densa* (elodea); *Ludwigia natans* (ludvigia) etc.

Em valas de irrigação muito rasas, os moluscos costumam ficar parcialmente recobertos por fina camada de terra, em horários de sol mais quente. O número de moluscos em uma região pode variar conforme a época do ano, período de seca ou de chuvas e tipo de criadouro.

O material necessário para coleta constitui-se de: pinças longas; conchas de captura; sacos plásticos, para acondicionar moluscos; luvas; botas de borracha; fichas de coleta; canetas e etiquetas para identificação do material coletado.

Na coleta, deve-se raspar, com a concha (Figura 16), o fundo, as margens do criadouro e a vegetação, lavar o material com cuidado e observar se foi coletado algum molusco. Depois, devem ser retirados os exemplares da concha, com auxílio da pinça, transferindo-os para um saco plástico. Finalmente deve-se anotar a data da coleta, a localização, o tipo de criadouro e o nome do coletor, e se possível identificar o local mediante a utilização de GPS.

Figura 16 – Concha de metal perfurada, com cabo de madeira, para coleta dos moluscos

Embalagem de Moluscos

Para a embalagem de moluscos vivos, deve-se proceder da seguinte maneira:

- umedecer, em água comum, uma faixa de gaze de 30 a 50 cm de comprimento/20 cm de largura;
- estender a gaze sobre uma superfície plana;
- colocar uma fileira transversal de moluscos a aproximadamente 3 cm da extremidade da gaze, deixando espaço de 1 cm entre os moluscos pequenos e de 2 cm entre os moluscos grandes (Figura 17A);
- dobrar a gaze sobre a fileira de moluscos, enrolando tipo um 'rocambole';
- colocar outra fileira de moluscos e repetir este procedimento até chegar próximo ao final da gaze. Entre a última fileira de moluscos e a extremidade da gaze deve sobrar uma margem de tecido suficiente para dar pelo menos uma volta completa sobre o cilindro de gaze que se formou;
- colocar a gaze com os moluscos em um saco plástico;
- identificar os moluscos: localidade, tipo de criadouro (córrego, lagoa, brejo, vala de irrigação ou drenagem), nome do coletor, data da coleta e qualquer outra informação considerada importante (Figura 17B);
- colocar o conjunto em recipiente resistente, tipo caixa de madeira (Figura 17C), manusear com cuidado para não esmagar os moluscos;
- não submeter os moluscos à refrigeração ou às altas temperaturas.

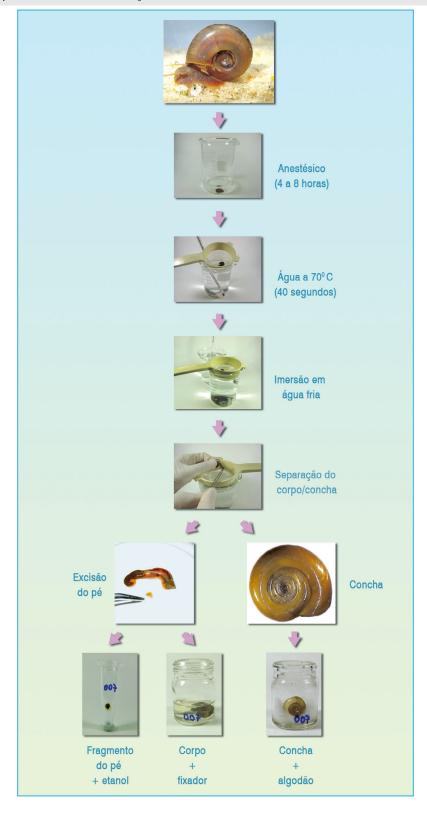
Fixação de Moluscos

A técnica para separar a concha do corpo do molusco e fixação deste último é realizada de acordo com os protocolos estabelecidos por Paraense (1976), com pequenas adaptações. A fixação tem por objetivo preservar as estruturas e proporções dos órgãos utilizados na identificação específica (Carvalho et al., 2005) (Figura 18). A primeira etapa deste procedimento inclui a imersão dos moluscos em solução anestésica

(pentobarbital sódico na concentração de 0,4 mg/ml), por um período de oito horas, até que fiquem completamente relaxados e imóveis. Para retirar o corpo dos moluscos, imergi-los em água a 70°C, por um período de trinta a 45 segundos (proporcional ao tamanho do exemplar). A temperatura da água, bem como o tempo de imersão dos exemplares não devem ultrapassar os limites acima. Em seguida, introduzi-los em água fria, segurando-os pela concha, e retirar o corpo com o auxílio de uma pinça. Após este processo, o corpo de cada exemplar deverá ser acondicionado em frascos contendo o fixador de Raillet-Henry (0,6% de cloreto de sódio, 5% de formol e 2% de ácido acético) por 24 horas, substituindo-o no final deste período por uma nova solução. A dissecção deverá ser iniciada após 48 horas. As conchas serão colocadas para secar e em seguida depositadas em frascos contendo algodão.

Para trabalhos de biologia molecular, antes de introduzir os moluscos na solução fixadora, corta-se um pequeno fragmento da região cefalopodal, que é estocada em tubos contendo etanol (álcool).

Figura 17 – Embalagem de moluscos. (A) Enrolamento da gaze; (B) Embalagem antes de ser colocada na caixa de madeira; (C) caixa de madeira

Figura 18 – Esquema da técnica de fixação dos moluscos

PROCESSO DE DISSECÇÃO DE MOLUSCOS

O material necessário consiste de: placa Petri, pinças de pontas finas e retas, pincel de cerdas finas e um microscópio estereoscópico. Os seguintes procedimentos devem ser adotados:

- na placa de Petri, coloque um pouco de fixador. Coloque o molusco do lado esquerdo, de maneira que o observador veja as aberturas masculina e feminina;
- com a pinça, vá despregando cuidadosamente o 'fio columelar' (junção entre o músculo columelar e o manto), primeiramente pelo lado esquerdo, até a altura da glândula digestiva;
- vire o corpo do molusco e retire o fio columelar do lado direito. Segure firmemente a cabeça do molusco com uma pinça e com outra puxe o colar do manto em direção à glândula digestiva. O manto se desprenderá do resto do corpo;
- observe a parte interna do manto. Nesta região existe o tubo renal no qual deverá ser observada a presença de pigmento ou se, do tubo, levanta-se uma crista pigmentada;
- vire o corpo do molusco novamente para o lado esquerdo. Observe a abertura genital masculina, que se localiza abaixo do tentáculo. O prepúcio e parte do ducto deferente podem ser vistos, por transparência, próximos à abertura masculina. A dissecção do complexo peniano inicia-se nesta região, retirando-se pele e músculos cuidadosamente com a pinça, até que o prepúcio e o ducto deferente fiquem expostos;
- puxe o prepúcio e o ducto deferente cuidadosamente até que fiquem liberados;
- disseque com cuidado o sistema genital feminino, observe a abertura e continue retirando as camadas de tecido até exposição completa. Com auxílio da pinça retire o sistema genital feminino e parte do masculino;
- despreze a região cefalopodal, o músculo columelar e o sistema digestivo;
- limpe o aparelho reprodutor com o auxílio da pinça e do pincel.

REFERÊNCIAS

CARVALHO, O. S. et al. *Moluscos de Importância Médica no Brasil*. Belo Horizonte: Centro de Pesquisa René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, 2005.

CHAIA, G. Technic for concentration of miracidia. *Revista Brasileira de Malariologia e Doencas Tropicais*, 8: 355-357, 1956.

PARAENSE, W. L. *Lymnaea viatrix*: a study of topotypic specimens (Mollusca, Lymnaeidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 36: 419-428, 1976.

PELLEGRINO, J. & KATZ, N. Experimental chemotherapy of schistosomiasis mansoni. In: DAWES, B. (Ed.) *Advances in Parasitology*. London: Academic Press, 1968.

PELLEGRINO, J. & SIQUEIRA, A. F. A perfusion technic for recovery of *Schistosoma mansoni* from experimentally infected guinea pigs. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 8: 589-597, 1956.

SOUZA, C. P. & LIMA, L. C. *Moluscos de Interesse Parasitológico do Brasil*. Belo Horizonte: Centro de Pesquisa René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, 1990.

PARTE III

Esquistossomose

18 A Patologia da Esquistossomose Humana

Zilton de Araújo Andrade

Molde de vinilite indicando um segmento da veia porta na esquistossomose avançada (em branco) e os ramos hiperplasiados da artéria hepática ao redor (em vermelho).

A situação da esquistossomose humana no Brasil vem sofrendo considerável mudança no seu padrão de apresentação clínico-patológica nos últimos vinte anos. Este problema foi claramente percebido quando Andrade & Bina (1985) compararam a patologia da esquistossomose avançada observada nas necropsias realizadas no Hospital das Clínicas da Universidade Federal da Bahia em dois períodos: 1957-1975 e 1976-1980. Verificaram então que as lesões encontradas foram qualitativamente as mesmas para os dois períodos, mas a percentagem de necropsias realizadas em casos de esquistossomose hepatoesplênica estava a mostrar um decréscimo progressivo entre os anos de 1976 a 1980. Também foi verificado que os casos que ocorriam entre os jovens estavam se tornando mais raros com o passar do tempo. Este padrão sugeria que algo novo estava acontecendo. As suspeitas sobre as causas do fenômeno recaíam em dois acontecimentos principais: a introdução de novas drogas curativas, simples de serem administradas e muito eficazes, que estavam tendo uso intensivo; e a ocorrência de algumas melhorias ambientais, sobretudo a instalação de água tratada e encanada, em zonas endêmicas (Carmo & Barreto, 1994).

Os dados indicativos de uma mudança no padrão de apresentação da patologia da esquistossomose, observados em 1985, foram, mais recentemente, revistos e consolidados (Andrade, 1998). Não parecem restar dúvidas de que as formas graves da esquistossomose, que por sinal são as de maior interesse para o estudo da patologia, estão se tornando uma raridade entre nós. Tal é particularmente verdadeiro para as formas complicadas da esquistossomose hepatoesplênica, como a arterite pulmonar com *cor pulmonale* crônico ou a glomerulopatia esquistossomótica.

A diminuição real do número de casos de esquistossomose grave, associada com o desinteresse que hoje em dia existe para a realização de necropsias em nossos hospitais tornam o apelo para o estudo do tema da patologia da esquistossomose humana avançada muito menor do que costumava ser, resultando daí não ter havido uma maior renovação dos conhecimentos nessa área nos últimos anos.

Levando em consideração o que foi exposto, este capítulo tentará uma abordagem sobre a patologia humana da esquistossomose um pouco diferente da usual, dando ênfase aos aspectos fisiopatológicos e às correlações clínico-patológicas. Os aspectos puramente morfológicos, que não deixaram de ser importantes, podem ser facilmente consultados em várias revisões existentes (Bogliolo, 1957; Andrade, 1965, 1991), havendo inclusive um estudo baseado numa análise de 232 necropsias completas e consecutivas (Andrade & Bina, 1983).

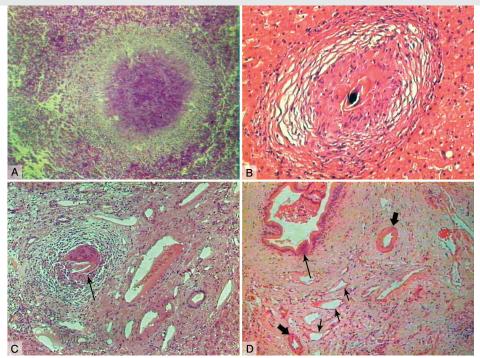
FORMAS ANATOMOCLÍNICAS DA ESQUISTOSSOMOSE

A esquistossomose se apresenta no homem sob uma forma aguda e duas formas crônicas, polares. Destas, uma forma é leve, geralmente assintomática, atingindo a maioria absoluta dos indivíduos infectados que vivem nas áreas endêmicas. Esta forma é chamada por vezes de forma hepatointestinal. A outra forma crônica é rara, e se manifesta geralmente com hepatoesplenomegalia e outros sinais de hipertensão porta, sendo usualmente designada como forma avançada ou hepatoesplênica.

Esquistossomose Aguda

Esta forma pode ser caracterizada, quanto à patologia, pela presença, em vários órgãos, especialmente no fígado, nos intestinos e no pulmão, de numerosos granulomas periovulares, ditos 'hiperérgicos', isto é, granulomas grandes, com predominante componente exudativo, com muitos eosinófilos, periferia pouco delimitada e freqüente necrose central ou halo de necrose periovular (Raso & Neves, 1965) (Figura 1A). Esta necrose pode assumir o aspecto hialino do chamado 'fenômeno de Hoeppli', aí ocorrendo um precipitado resultante da interação antígeno-anticorpo (Kephart, Andrade & Gleich, 1988). Há também um componente reacional bem nítido, com mobilização linfomacrofágica em vários órgãos, especialmente no fígado (hepatite reacional), mas podendo configurar no baço as alterações de um 'tumor esplênico agudo', comumente visto em processos septicêmicos. O quadro reflete uma infeção de instalação recente, com produção de grande número de ovos, num organismo sensível, geralmente infectado pela primeira vez. Tem sido visto mais comumente em indivíduos que visitam as áreas endêmicas que em moradores destas áreas, o que sugere que estes últimos podem ter sido expostos muito cedo na vida aos antígenos do parasita e estejam, assim, de certo modo 'dessensibilizados' face aos antígenos parasitários. O surgimento de vários casos da forma aguda num pequeno intervalo de tempo serve para denunciar focos de instalação recente de transmissão, quando até mesmo pequenos surtos epidêmicos podem ocorrer, numa população sem contacto prévio com a parasitose.

As manifestações clínicas são dominadas por prostração, febre e eosinofilia, que podem surgir alguns dias após a exposição cercariana ou, mais freqüentemente, cerca de um mês depois, coincidindo com o começo da eliminação de ovos nas fezes, o que pode provocar dores abdominais e diarréia acompanhada de muco e sangue. Daí se dizer que a forma aguda pode ser pré ou pós-postural (Hyatt et al., 1979). O agente sensibilizante por excelência está relacionado com o ovo maduro (miracídio) e, em menor grau, com os produtos de desagregação dos esquistossômulos e de vermes adultos jovens. Dados experimentais obtidos com o modelo murino ajudam a compreender a patogenia da forma aguda (Andrade & Azevedo, 1987). Animais infectados, sacrificados em seqüência, diariamente, exibiram o fígado e o baço histologicamente sem qualquer alteração até o momento em que os ovos maduros se fizeram presentes. A partir daí surgiram as alterações de hepatite e esplenite reacionais. Pode-se presumir que houve o desencadeamento de uma reação imune de tipo Th2, que tipicamente é induzida por ovos de *Schistosoma mansoni* (Pearce et al., 1991). Sabe-se que, em infecções maciças experimentais, os esquistossômulos e vermes imaturos podem formar emaranhados ou êmbolos. Estes parasitos costumam então se desintegrar, dando lugar ao surgimento de trombose, necrose e inflamação. É possível que os raros casos de esquistossomose aguda pré-postural que estão registrados na literatura tenham resultado de infecções maciças, acompanhadas da desintegração de muitas formas imaturas do parasita. Todavia, no comum dos casos, o aparecimento da sintomatologia coincide com o início da eliminação dos ovos nas fezes.

Figura 1 – (A) Lesão focal, centrada por necrose, circundada por um halo mais claro, com muitos eosinófilos e macrófagos, observada no fígado de uma paciente jovem que faleceu com o quadro de esquistossomose aguda. H & E, X200; (B) Típico granuloma periovular encontrado na forma crônica leve da esquistossomose. A lesão aparece situada em pleno parênquima hepático e está centrada por uma área de acúmulo de macrófagos em torno do ovo do *Schistosoma mansoni.* Na periferia se observa um halo de laminações concêntricas do colágeno. H & E, X200; (C) Lesão de fibrose portal esquistossomótica vista em paciente com a forma hépato-esplênica da esquistossomose. O espaço porta está ampliado por fibrose e exibe angiectasia e um granuloma periovular (seta). H & E, X100; (D) Aspecto freqüentemente observado nas formas avançadas da esquistossomose humana. Extensa fibrose portal, onde se identificam as estruturas biliares (seta longa e fina), os ramos da artéria hepática (setas curtas e grossas), mas com os ramos da veia porta correspondente aparecem substituídos por muitos vasos de paredes finas e luzes dilatadas (setas pequenas)

Em casos muito graves a forma aguda pode evoluir, em tempo relativamente rápido, para a forma hepatoesplênica (Neves & Raso, 1965).

Esquistossomose Crônica

No que pese o aparecimento de casos agudos, a esquistossomose é de fato uma doença crônica, com uma tendência impressionante a exibir um padrão bipolar, com cerca de 90% de formas leves, sendo os pacientes muitas vezes assintomáticos, e de 4% a 10% de formas graves ou avançadas, com correlação positiva com o grau de transmissibilidade de uma determinada área geográfica endêmica.

Forma crônica habitual ou leve

A forma crônica habitual ou leve é a forma em que se encontra a maioria das pessoas infectadas nas áreas endêmicas, ou eventualmente fora delas, eliminando ovos viáveis nas fezes, mas assintomáticas

ou com queixas vagas, geralmente discretas, inespecíficas. Pode-se supor que algumas manifestações intestinais podem ocorrer por conta de uma infecção de instalação recente, mas que tendem a desaparecer, com ou sem tratamento. Alguns clínicos sugerem a existência, entre os casos leves, de uma forma hepática e outra hepatointestinal, mas não há uma base anatômica que justifique tal classificação. Na realidade, em qualquer infecção esquistossomática o fígado está sempre lesado. Por outro lado, o intestino, mesmo sendo sede da eliminação dos ovos, é encontrado geralmente pouco lesado nos casos de esquistossomose mansoni no Brasil. Ao contrário do que acontece no Egito, são raríssimos entre nós os casos sintomáticos ou assintomáticos de polipose esquistossomática. Em estudo de necropsias em que foram comparadas as lesões intestinais presentes em 502 infectados e 933 controles (não infectados), não foram notadas diferenças estatisticamente significativas entre a freqüência de colites, enterocolites, pólipos ou fibroses intestinais nos dois grupos (Cheever & Andrade, 1967).

O que se vê no fígado, e eventualmente em outros órgãos, são granulomas periovulares isolados, em várias fases de evolução para a cicatrização. O número destes granulomas habitualmente fica dentro de certo limite, entre um e quatro por secção histológica. Isto denota um estado de equilíbrio, que faz com que as lesões causadas pela chegada de novos ovos viáveis sejam contrabalançadas pela reabsorção daquelas mais antigas. Além de aparecerem isolados, os granulomas periovulares da forma leve da esquistossomose se formam nas mais finas ramificações terminais da veia porta (Andrade & Prata, 1963); por isso, dão a impressão de estarem situados em pleno parênquima hepático (Figura 1B). Este é um detalhe interessante a ser notado pelo patologista que examina material de biópsia hepática. Se o granuloma periovular se forma em espaço porta maior, onde aparecem bem nítidos os outros elementos da tríade portal, o significado é diferente. Denota uma infecção mais grave, já com ovos sendo depositados em posição periportal, o que é próprio das formas avançadas (Figura 1C).

As biópsias hepáticas de agulha, realizadas em indivíduos com a forma leve da infecção, revelaram a presença de granulomas centrados por ovos de *S. mansoni* em 16% dos casos, além da presença de granulomas sem ovos em 17,3% (Andrade & Prata, 1963).

A carga parasitária nos portadores da forma leve geralmente é baixa e tende a assim permanecer, pois mesmo expostos à fonte de contaminação, eles exibem fortes indícios de imunidade protetora (Cheever, 1968).

Forma grave ou avançada da esquistossomose

A forma grave ou avançada da esquistossomose é caracterizada morfologicamente pela fibrose hepática periportal, dita *pipestem*, descrita por Symmers (1904). Esta é uma lesão representada por expansão fibrosa sistematizada dos espaços porta, acompanhada de lesões destrutivas e obstrutivas do sistema da veia porta intra-hepático, mas com preservação da arquitetura normal do parênquima. Este quadro pode aparecer em indivíduos sem sinais de hipertensão do sistema porta, sem esplenomegalia, portanto. No caso, esta seria uma forma hepática avançada. Em muitos outros casos a repercussão clínica se traduz nos sinais de hipertensão porta: esplenomegalia e circulação colateral (varizes do esôfago). Daí a designação de forma hepatoesplênica, associada com altas cargas parasitárias e geralmente desenvolvida na infância. O indivíduo infectado que passa a morar fora da área endêmica, se ainda não tiver desenvolvido a forma avançada da doença, não virá mais a desenvolvê-la. Tem sido dito que, mesmo vivendo na área endêmica, o indivíduo que, aos 15 anos, não desenvolveu a forma grave da esquistossomose, não mais a desenvolverá.

Estes dados reforçam o conceito sobre a importância da infecção na infância e também o papel das reinfecções subseqüentes (Prata, 1991).

Forma Hepática Avançada

A forma hepática avançada apareceu descrita pela primeira vez em um artigo de Prata & Andrade (1963). Durante uma colecistectomia praticada em um morador de uma área hiperendêmica de esquistossomose foi notado que o fígado exibia um quadro macro e microscópico típico da forma hepatoesplênica, mas sem esplenomegalia. Uma pesquisa retrospectiva feita nos arquivos do Serviço de Patologia do Hospital Universitário revelou mais seis casos semelhantes. Nestes casos deve ter havido um processo de ajuste vascular, impedindo a manutenção de um processo de hipertensão porta. O interessante é que este trabalho, que revelou a presença de fibrose periportal (*pipestem*) esquistossomática na ausência de esplenomegalia, permaneceu sem maior repercussão durante muito tempo, até que a técnica da ultra-sonografia viesse a ser empregada no diagnóstico das formas avançadas da esquistossomose (Homeida et al., 1988; Coutinho, 1990). Constatou-se então ser a fibrose de Symmers sem esplenomegalia uma forma relativamente freqüente, mas que habitualmente passa desapercebida, podendo ser detectada nos inquéritos de campo com o emprego das técnicas de imagens (Coutinho, 1990). A análise dos protocolos clínicos dos casos estudados por Prata & Andrade (1963) revelou que não houve, da parte dos pacientes, referências a queixas ou manifestações atribuíveis à esquistossomose, não havendo participação desta doença no mecanismo determinante da morte.

Forma Hepatoesplênica

A forma hepatoesplênica costumava representar de 4% a 12% dos pacientes encontrados em áreas endêmicas de alta transmissibilidade. Hoje em dia, se tornou uma forma rara e sua real prevalência ainda necessita ser determinada. Ela permanece importante pela sua gravidade, embora possa sofrer regressão, sobretudo em indivíduos jovens, especialmente após o tratamento curativo da parasitose (Bina & Prata, 1983; Richter, 2003; Mohamed-Ali et al., 1991). Seu interesse anatomopatológico reside no fato de representar uma hepatopatia crônica peculiar e característica (Andrade, 2004). O aspecto macroscópico da lesão hepática representa um dos poucos quadros que podem ser considerados como patognomônicos, em patologia, e foi magistralmente descrito, há um pouco mais de um século atrás, por Symmers (1904). É representado na superfície de corte do fígado pela presença de um espessamento fibroso periportal sistematizado, sob a forma de placas, estrelares ou irregulares, tendo no fundo um parênquima de aspecto normal, com veias hepáticas sem alterações (Figura 2). A fibrose portal é o resultado da deposição de numerosos ovos de *S. mansoni*, com conseqüente reação inflamatória crônica granulomatosa, destruição vascular e fibrose. Este quadro microscópico florido é encontrado em jovens, pois a presença de ovos nas lesões diminui progressivamente com o passar do tempo, embora a fibrose, as alterações vasculares e um certo grau de inflamação persistam por um tempo mais longo. Desta maneira, em jovens abaixo dos 17 anos com síndrome clínica de hipertensão porta e fibrose portal, mas com ausência de ovos de *S. mansoni* em material de biópsia cirúrgica, a possibilidade de a esquistossomose como etiologia deve ser excluída. Ao contrário, nos pacientes mais idosos, tal diagnóstico histológico pode vir a ser feito exclusivamente com base nas lesões fibróticas e vasculares

encontradas. Estas são representadas por espaços porta ampliados por fibrose, com lesões destrutivas ou obstrutivas da veia porta, com dispersão de leiomiocitos a partir da dissociação da camada média da veia e com preservação das estruturas arteriais e biliares, embora ambas possam se apresentar com variáveis graus de hiperplasia e/ou hipertrofia (Figura 1D). A dissociação dos leiomiócitos é um aspecto importante do quadro microscópico. Esta dissociação a partir das paredes musculares da veia porta pode ser encontrada eventualmente na cirrose hepática e, provavelmente, em outras condições acompanhadas de fibrose portal. Todavia, na esquistossomose avançada ela é constante e pode ser um achado proeminente (Figura 3), pois tem a ver com a agressão que sofre a veia porta na esquistossomose. As células musculares dissociadas (leiomiócitos) se diferenciam em miofibroblastos, que podem aparecer abundantes sob o microscópio eletrônico. Foi na base do achado de miofibroblastos que se sugeriu ocorrer na esquistossomose uma fibrose de tipo peculiar, comparável à de um quelóide, na qual os miofibroblastos contribuem para a formação de uma fibrose retráctil (Grimaud & Borojevic, 1977). Nos espaços porta, tal fibrose, ao se retrair e comprimir os vasos, teria um papel essencial no mecanismo da hipertensão porta. Contudo, estudos mais recentes vieram a demonstrar que os miofibroblastos se originam da parede muscular da veia porta lesada e que são células meramente transicionais, uma parte se transformando em fibroblastos e outra desaparecendo, provavelmente por apoptose (Andrade, Guerret & Fernandes, 1999).

Figura 2 – Superfície de corte do fígado na forma hépato-esplênica da esquistossomose. Os espaços porta se mostram ampliados em placas fibrosas esbranquiçadas e isoladas no seio do parênquima hepático, o qual conserva sua aparência habitual

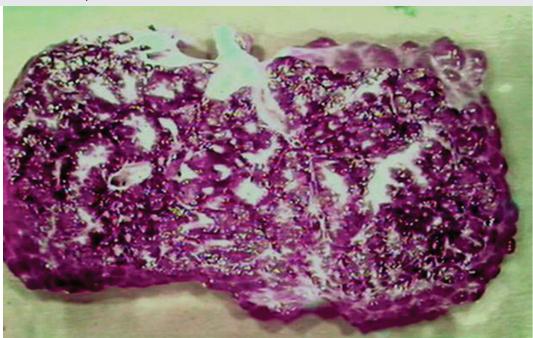
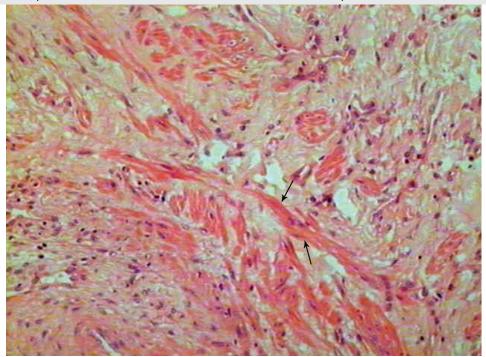
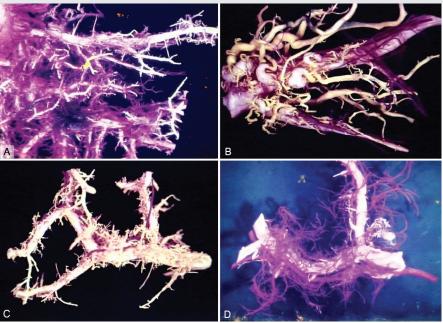



Figura 3 – Dissociação de fibras musculares lisas (setas) no seio do tecido fibroso portal, observada em caso de esquistossomose hápato-esplênica. Estas fibras freqüentemente se transdiferenciam em miofibroblastos, podendo daí se transformarem em fibroblastos ou desaparecerem. H & E, X400

O parênquima conserva sua estrutura lobular ou acinar em sua maior parte. Todavia, ocorrem com freqüência lesões de atrofia, com fibrose perissinusoidal fina, podendo evoluir para a formação de finos e longos septos. Também aparecem focos de cicatrização pós-necrótica, representados por faixas ou septos fibrosos delimitando nódulos hepatocelulares de regeneração, de tamanhos variáveis. Estas áreas de 'cirrose focal' são vistas geralmente em zonas subcapsulares, mas podem aparecer também nas proximidades dos grandes espaços porta (Andrade, 1965). O seu caráter focal é melhor apreciado durante o exame de material de necropsia. Em biópsias cirúrgicas o diagnóstico diferencial com cirrose fica difícil. Este fato já tem dado origem a controvérsias sobre a possibilidade de a esquistossomose causar cirrose hepática (Andrade, 2004). Estas alterações parenquimatosas encontram sua explicação na peculiar patologia vascular da forma hepatoesplênica da esquistossomose, que será considerada a seguir.

- Lesões vasculares

A melhor maneira para se apreciar as profundas alterações vasculares que ocorrem no fígado com fibrose periportal esquistossomática é pela análise de modelos plásticos da árvore vascular, após injeção simultânea, nos três setores – veia porta, artéria hepática e veia hepática –, de resina de cores diferentes (Andrade & Cheever, 1971). Pode-se ver então que a rede porta está consideravelmente reduzida, com desaparecimento dos seus ramos mais finos e mais periféricos, com amputações de ramos medianos, os quais podem ainda mostrar diminuição súbita de calibre, tortuosidades, desvios com curto-circuitos, terminações em pontas afiladas ou em forma de pincéis. Em torno dos ramos mais calibrosos por vezes

se forma uma fina rede de vasos periportais finos, à maneira de um manguito periportal (Figura 4). Em contraste, os ramos arteriais que, nos fígados normais, injetados sob a mesma técnica, aparecem escassos, surgem nos fígados esquistossomáticos como o elemento vascular predominante. Estes vasos arteriais aparecem abundantes, com muitos ramos finos e retilíneos ou ligeiramente ondulados, formando uma densa rede, especialmente em torno dos ramos mais calibrosos, provavelmente representando vasos do plexo peribiliar hipertrofiados (Figuras 4A e 4D).Os ramos das veias hepáticas não exibem alterações evidentes quando comparados com o fígado normal, embora possam aparecer relativamente reduzidos nos modelos plásticos da esquistossomose, em virtude da considerável riqueza de vasos arteriais.

Figura 4 – Moldes plásticos obtidos em fígados com esquistossomose avançada após injeção de vinilite na veia porta (amarelo) e artéria hepática (vermelho) seguida de corrosão em ácido forte. Vê-se a marcada hipertrofia da artéria hepática, provavelmente representada pelos plexos peri-biliares, em (A) e (D); o grau acentuado de distorção que podem sofrer os ramos da veia porta, com o aparecimento de tortuosidades, diminuição súbita de calibre e curto-circuitos (B) e a formação de um manguito colateral de pequenos vasos periportais dilatados (C)

Fonte: Andrade & Cheever (1971).

A hipertrofia arterial provavelmente se estabelece como uma reação compensatória à destruição progressiva dos ramos porta. O fígado se torna essencialmente um órgão arterializado, com o passar do tempo. Sabe-se que o fígado pode viver sem o sangue portal. Em ratos, a ligadura progressiva (em dois tempos) do tronco da veia porta resulta em hipertrofia arterial, todavia com manutenção do padrão histológico e histoquímico do fígado normal (Almeida-Melo, Grimaud & Andrade, 1983). Porém, o exame ultra-estrutural revela a presença de hiperfibras colagenosas no espaço de Disse, revelando indícios de capilarização dos sinusóides.

Mas, este tipo de adaptação vascular que ocorre nos pacientes com esquistossomose hepatoesplênica não se faz sem conseqüências importantes. Uma delas decorre de o parênquima hepático ficar

demasiadamente dependente da perfusão arterial, a qual pode atingir níveis críticos quando a pressão sistêmica cai, como costuma acontecer durante sangramentos digestivos maciços, um acontecimento não pouco freqüente naqueles pacientes. Estes acidentes costumam se acompanhar de necroses isquêmicas focais no fígado, que podem evoluir para zonas de cicatrização pós-necrótica nos sobreviventes. Estudos feitos com medidas diretas da pressão sinusoidal *in vivo* revelaram que a hipertrofia arterial é de fato a responsável pela hipertensão de tipo pós-sinusoidal que aparece na esquistossomose avançada (Alves et al., 1977). Também ela pode explicar os achados hemodinâmicos que mostram por que o fluxo sanguíneo hepático total se conserva nos hepatoesplênicos dentro dos níveis normais, a despeito do baixo fluxo portal (Ramos, Saad & Lesser, 1964).

- Patogenia

Até o momento não ficou claramente demonstrado por que apenas uma pequena fração dos indivíduos infectados nas áreas de alta transmissibilidade desenvolve a forma hepatoesplênica da esquistossomose. Há consenso de que a carga parasitária é o fator primordial (Cheever, 1968). A redução da carga parasitária pelo tratamento específico evita ou cura a doença. Não há desenvolvimento de formas avançadas em indivíduos com carga leve, que, aliás, constituem a maioria absoluta dos infectados. Mas, há indivíduos com altas cargas parasitárias (que eliminam grande número de ovos viáveis nas fezes) e que não evoluem necessariamente para a forma hepatoesplênica. Parece que, além da carga parasitária, deve haver outros fatores coadjuvantes que são importantes. Entre estes, há fortes indícios clínicos (Prata, 1991; Coura, 1975) e experimentais (Santos, Souza & Andrade, 2000; Coelho et al., 1996) apontando para a importância das reinfecções.

A Tabela 1 demonstra com bastante clareza a influência das reinfecções na produção da fibrose periportal no modelo murino e revela que tal ocorre sem que haja um aumento da carga parasitária nos animais reinfectados. Outros fatores, como o padrão genético dos pacientes, a participação do sistema imune, influência da raça etc. não parecem decisivos, mas a possibilidade de os mesmos virem a desempenhar um papel na patogenia ainda não pode ser descartada.

Tabela 1 – Desenvolvimento de fibrose periportal “pipestem” (A) e média dos ovos do *Schistosoma mansoni* em camundongos com infecção simples e infecções múltiplas (B)

A				
Grupos	N	c/ “pipestem”	Gran. Isol.	Mixtos
Inf. Múltiplas	26	18(69,2%)	06(23,0%)	02(7,6%)
Inf. Simples	18	02(11,1%)	13(72,25)	03(16,6%)

B		
Grupos	N	Média ± DP
Inf. Múltiplas	26	12.139,03 ± 5.343,64
Inf. Simples	18	10.925,17 ± 5.124,63

Obs.: Teste não paramétrico de Mann-Witney - $p > 0,05$. Valor de $p = 0,6819$.

Fonte: Santos, Souza & Andrade (2000).

Os patologistas têm se preocupado mais com o mecanismo das lesões, isto é, com o curso do processo dinâmico que leva ao aparecimento da lesão de fibrose periportal sistematizada. Neste particular, os estudos com o modelo murino da fibrose *pipestem* têm dado uma contribuição fundamental (Andrade, 1987). Os moldes plásticos da árvore portal obtidos de camundongos infectados têm mostrado que a destruição progressiva dos ramos vasculares mais periféricos é acompanhada por uma dilatação das finas ramificações colaterais que saem dos grossos ramos e que, em condições normais, servem para nutrir os tecidos periportais. A dilatação destes ramos colaterais, com o estabelecimento provável de um fluxo sanguíneo mais intenso para o interior dos mesmos, cria as condições para que os ovos, continuamente carreados pelo sangue portal, sejam depositados e concentrados nos espaços periportais (Silva et al., 2006). Tem sido aventada a possibilidade de que um mecanismo em cadeia seja essencial para que a fibrose periportal sistematizada apareça. Presume-se que seja essencial uma embolização inicial maciça de ovos, o que vai resultar numa amputação de uma quantidade significativa de ramos periféricos, e que esta entrada expressiva de ovos no interior do sistema porta continue sendo mantida quando ocorrer a abertura das colaterais periportais. Uma falha na sincronia destas etapas, por queda na produção continuada dos ovos, por exemplo, poderia impedir o desenvolvimento da lesão *pipestem*. No desenvolvimento desta lesão, as reinfecções revelaram-se importantes, mas sem evidência de que tal ocorresse pelo aumento da carga parasitária ou pela atuação de fatores imunológicos (Silva et al., 2004).

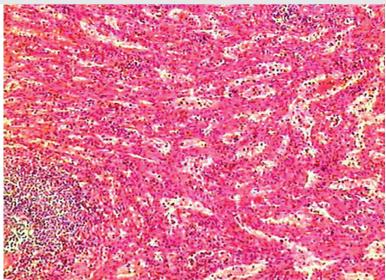
‣ Esplenomegalia

O baço aumentado de volume é o outro componente morfológico destacado da forma hepatoesplênica da esquistossomose. Este aumento resulta de uma combinação de proliferação dos seus elementos celulares, que ocorre em fases precoces da doença, com a congestão passiva crônica, que surge mais tardiamente. A congestão é uma conseqüência da hipertensão portal, mas, paradoxalmente, as alterações esplênicas acabam por ser um fator predominante na patogenia desta mesma hipertensão. Isto porque os cordões esplênicos espessados acabam se constituindo em zonas de conexão entre arteríolas e vênulas, formando assim como que numerosas fístulas arteriovenosas intra-esplênicas, que trazem para o sistema porta um aporte extra de sangue, sob alta pressão, vindo quase que diretamente da artéria esplênica (Freitas et al., 1999). Daí os efeitos benéficos da esplenectomia sobre o grau da hipertensão portal. A estes efeitos devem se somar as repercussões sobre as manifestações do hiperesplenismo, tais como a pancitopenia e o infantilismo esplênico, que ocorrem logo após a esplenectomia.

A histopatologia do baço é dominada pelas alterações que atingem a polpa vermelha:

- espessamento dos cordões venosos por aumento da celularidade e
- depósito de matriz extracelular e dilatação e congestão dos seios venosos (Figura 5).

Em um estudo de 34 casos foi verificado que o espessamento da matriz extracelular dos cordões esplênicos não contém colágenos fibrilares (tipos I e III), mas sim elementos de membrana basal (colágeno tipo IV e laminina) (Freitas et al., 1999). A fibrose foi vista em áreas focais esparsas da polpa vermelha, em nódulos sidérico-escleróticos, em traves e trabéculas esplênicas e em folículos linfóides da polpa branca. Estes resultados desaconselham o uso do termo 'esclerocongestiva', com que se costuma designar a esplenomegalia da esquistossomose, pois o grau de esclerose verdadeira é mínimo.

Figura 5 – Aspecto do baço na esplenomegalia congestiva da esquistossomose. Há dilatação dos seios venosos e espessamento dos cordões esplênicos, além de um certo grau de atrofia da polpa branca (folículo linfóide). H & E, X400

- Complicações

Três condições graves e bastante diferentes entre si podem ser consideradas como complicações da forma hepatoesplênica da esquistossomose no homem: a pneumopatia esquistossomática com *cor pulmonale*, a glomerulopatia esquistossomática e o linfoma esplênico de tipo nodular, não-Hodgkin. Todas estas condições se tornaram de extrema raridade nos dias atuais, quando até a própria forma hepatoesplênica da esquistossomose vem se tornando rara.

Pneumopatia Esquistossomótica com *Cor Pulmonale*

A pneumopatia esquistossomática com *cor pulmonale* chegou a representar 17.9% dos casos hepatoesplênicos necropsiados no Hospital das Clínicas da UFBA, em Salvador, BA (Andrade & Andrade, 1970). Trata-se de uma complicação de prognóstico grave e que tem uma patogenia semelhante àquela que leva à fibrose periportal esquistossomática. O estudo sistemático dos pulmões de 78 necropsias realizadas em portadores da forma hepatoesplênica da esquistossomose permitiu observar que os ovos do parasita, ao serem embolizados para o pulmão, vão se alojar em pré-capilares alveolares. Somente quando ocorre embolização maciça, com amputação de numerosos pré-capilares, é que os ovos podem aparecer em colaterais que saem dos médios e grossos ramos arteriais. Quando este aspecto é surpreendido no exame histológico, já se pode notar no coração espessamento significativo do cone de ejeção da artéria pulmonar (*cor pulmonale*) (Sadigursky & Andrade, 1982). As lesões das arteríolas que emergem em ângulo reto dos médios e grossos ramos da artéria pulmonar costumam apresentar um aspecto angiomatóide (lesão plexiforme). Embora tenha sido sugerido que estas lesões representam os locais em que se formavam fístulas arteriovenosas, os estudos com moldes plásticos vieram a mostrar que elas são, de fato, puramente arteriais (Figura 6). Pelo seu aspecto enovelado visto nos moldes plásticos, foi sugerida a designação de 'lesão glomerulóide' para a lesão plexiforme arteriolar (Sadigursky & Andrade, 1982).

Figura 6 – Alterações vasculares observadas em portadores de *cor pulmonale* crônico esquistossomótico. Em (A) vêm-se lesões granulomatosas periovulares fomadas na saída de colaterais de ramos de uma artéria pulmonar de médio calibre. H & E, X100; Em (B) uma lesão plexiforme ou angiomatóide, observada histologicamente. Orceína, X200; (C) e (D) representam moldes plásticos de lesões angiomatóides (setas). Estas lesões vasculares são puramente arteriais e têm uma conformação glomerular, porisso deveriam ser melhor designadas como "*Lesões glomerulóides*"

Glomerulopatía Esquistossomótica

A glomerulopatía esquistossomática constitui-se num exemplo de nefropatia parasitária induzida por complexos imunes (Andrade & Rocha, 1979; Andrade & Van Marck, 1984). Há indicações de que a sua prevalência nos casos de esquistossomose hepatoesplênica continua a mesma de uns trinta anos atrás, mas como os casos dessa última condição diminuíram, os exemplos da nefropatia se tornaram raros hoje em dia (Correia, Martinelli & Rocha, 1997), como indica a Tabela 2.

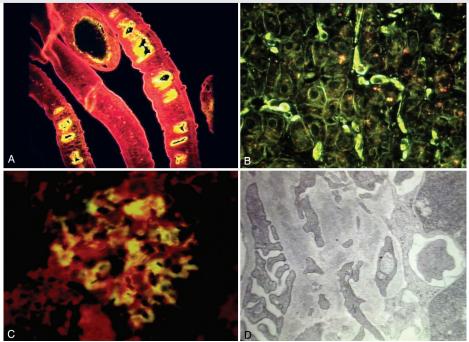
O interessante é que tal tipo de glomerulopatia parasitária foi um dos raros casos em que foi possível se demonstrar os antígenos e anticorpos envolvidos, bem como o mecanismo da produção da lesão glomerular e seus aspectos ultra-estruturais (Andrade & Rocha, 1979; Andrade & Van Marck, 1984). O antígeno principal parece ser um polissacarídeo de alto peso molecular, oriundo do revestimento do tubo digestivo do verme adulto. Este antígeno é quase totalmente seqüestrado pelas células de Kupffer na sua passagem pelos sinusóides hepáticos e assim não aparece na circulação nos casos de infecção leve. Na presença de infecção maciça este antígeno pode ser detectado na circulação. Na presença de hipertensão porta, a circulação colateral desvia o antígeno gerado pelos vermes na circulação mesentérica para a circulação geral, e assim ele chega aos rins e é depositado na região mesangial dos glomérulos. A técnica de imunofluorescência permite acompanhar a presença do antígeno polissacarídeo de alto peso molecular, desde sua origem no tubo digestivo do verme adulto até o seu depósito na região mesangial do glomérulo

renal (Figura 7). Vários tipos morfológicos de glomerulonefrite crônica podem daí resultar, mas os principais são a glomerulonefrite mesângio-proliferativa e a esclerose glomerular focal, formas que geralmente se acompanham de síndrome nefrótica (Ramos & Andrade, 1987).

Tabela 2 – Observações sobre a glomerulopatía esquistossomótica em Salvador, Bahia, Brasil

Períodos	N. Necrópsias	N. Casos	%
1960/1970	140	16	11,4
1980/1990	14	4	12,9

Fonte: Correia, Martinelli & Rocha (1997).

Figura 7 – O principal antígeno encontrado no tubo digestivo do *Schistosoma mansoni*, um polissacáride de alto peso molecular, aparece identificado na sua localização no verme adulto (A), em células de Kupffer (B) e na região mesangial do glomérulo renal (C), o qual revela, quando examinado por microscopia eletrônica, a presença de depósitos osmiofílicos no interior da região mesangial (D). Tecidos de camundongo infectado. Imunofluorescência indireta, com anticorpo específico produzido em coelhos. A X100; B e C X200; D, eletromicrografia X7.000

Linfomas Esplênicos

Os linfomas esplênicos foram vistos complicando a esquistossomose hepatoesplênica observada em oito portadores de esquistossomose avançada, o que corresponde a um índice de 0,9%, num grupo de 863 esplenectomias pesquisadas (Andrade & Abreu, 1971). Todos os casos, exceto um, ocorreram em mulheres, a maioria com mais de quarenta anos de idade. Os linfomas foram de tipo nodular, não-Hodgkin, mas necessitariam ser reclassificados de acordo com critérios mais precisos e com tecnologia atual.

Outras séries de casos semelhantes, inclusive com a predominância do sexo feminino foram publicadas, mas não ficou determinado de que maneira a esquistossomose concorre no determinismo da neoplasia (Paes & Marigo, 1981). Sabe-se que a possibilidade de um linfoma surgir em outras condições de esplenomegalia parasitária crônica não é rara, como tem sido visto em casos de malária crônica na África (Schmauz, Mugerwa & Wright, 1990).

ASSOCIAÇÃO COM OUTRAS DOENÇAS

A associação com outras doenças tem sido estudada com interesse na esquistossomose avançada. O exemplo mais destacado é o da associação com salmoneloses septicêmicas prolongadas ou mesmo com septicemias prolongadas em geral (Teixeira, 1991; Neves & Lobo Martins, 1967). As observações iniciais se fizeram com casos de febre tifóide que exibiam em hepatoesplênicos um quadro febril prolongado, com acentuada esplenomegalia, emagrecimento e disproteinemia, muito semelhante ao da leishmaniose visceral (calazar) (Teixeira, 1991). O interessante é que todo o quadro regredia com a cura da esquistossomose, mais do que com o tratamento direto da salmonelose pelo cloranfenicol. A sugestão de que as bactérias escapavam da resposta imune do hospedeiro e, até um certo ponto, da ação dos medicamentos, por estarem abrigadas nos vermes, foi apoiada por alguns estudos experimentais (Young et al., 1973).

Outra associação mórbida que desperta muita atenção é aquela com a hepatite viral. A princípio se descobriu que a presença do vírus da hepatite B ocorria sete vezes mais freqüentemente em hepatoesplênicos do que em controles, representados por doadores de sangue, ou em indivíduos com a forma leve da esquistossomose (Guimarães et al., 1981). Vários estudos feitos em pacientes hospitalizados confirmaram estes resultados (Lyra, Rebouças & Andrade, 1976; Gaffar et al., 1991), mas não quando foram consideradas as populações das áreas endêmicas (Chen et al., 1993; Eltoum et al., 1991; Rocha, 1998). Neste último caso, a associação da hepatite viral com a esquistossomose apareceu como fortuita, não diferindo com o que acontece com a população em geral. Por outro lado, entre os indivíduos com esquistossomose hepatoesplênica e co-infecção pelo vírus B, podem ser encontrados desde portadores sem sinais histológicos de hepatite até portadores de vários estádios de hepatite crônica, cirrose e mesmo hepatocarcinoma (Rocha, 1998).

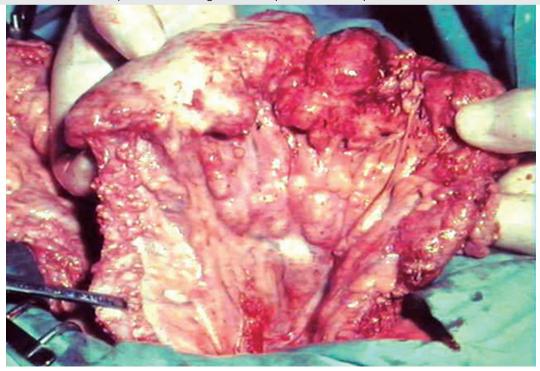
Um estudo experimental feito em marmota, um animal susceptível tanto à esquistossomose como à hepatite viral de tipo B, não mostrou qualquer interação entre as duas etiologias, nem com a evolução das alterações histopatológicas ou da carga viral (Andrade et al., 2001).

Assim sendo, a alta incidência de hepatite viral B (e por vezes também C) registrada em hepatoesplênicos hospitalizados deve estar relacionada com as freqüentes intervenções que estes pacientes sofrem no meio hospitalar, sobretudo as cirurgias e as transfusões de sangue.

Formas Tumorais

Alguns pacientes, na vigência de qualquer forma clínica de esquistossomose, podem apresentar lesões tumorais, às vezes confundíveis com neoplasias malignas, geralmente situadas no interior da cavidade abdominal, causadas por uma deposição maciça e focal de ovos de *S. mansoni* (Figura 8). Estes casos têm sido relativamente bem divulgados em várias revisões da literatura (Andrade & Rodrigues,

1954; Bicalho, 1978; Armbrust et al., 1963), o que pode deixar a impressão de que eles sejam bem freqüentes. Na realidade são raros, embora tal raridade não diminua sua importância.

Figura 8 – Forma pseudo-neoplásica da esquistossomose. Presença de vários nódulos observados no mesentério e epiplon de um paciente jovem durante uma laparotomia exploratória. A observação macroscópica sugeria uma neoplasia maligna, mas as secções obtidas após congelamento revelaram apenas lesões causadas por numerosos granulomas periovulares esquistossomóticos

Sabe-se que os casais de *S. mansoni* têm uma atividade migratória bem marcada, o que faz com que eles depositem os ovos espalhados por vários lugares diferentes. Mas, se por qualquer circunstância, geralmente na vigência de lesão vascular, eles se virem impedidos de mudar de lugar, os ovos são produzidos continuamente numa pequena área e ali se acumulam em grande número. Surge então uma lesão focal, tumoral, com extensa fibrose. Alguns têm se referido a esse tipo de lesão como sendo 'lesão pseudotumoral'. Esta é uma designação equivocada, influenciada pelo termo inglês *tumour*, que tem uma conotação de neoplasia. Em português o correto seria a designação 'lesão pseudoneoplásica'. Os casos descritos aparecem como pólipos intestinais, lesões colônicas ou pericolônicas, estenosantes ou não, e massas tumorais localizadas no mesentério, no epíplon, onde podem simular carcinomatoses ou linfomas, bem como a presença de massas em órgãos genitais internos femininos ou no testículo e epidídimo.

Uma lesão fibrosante pericolônica esquistossomática, que pode simular a fibrose retroperitoneal idiopática ou uma neoplasia infiltrante, foi descrita em 15% dos casos de necropsias em portadores da forma hepatoesplênica da esquistossomose (Andrade & Melo, 1974). A lesão consiste numa fibrose densa que envolve o tecido adiposo e o torna esbranquiçado e muito duro, formando massas ao longo das bordas do cólon ou em torno do reto, não comprometendo as paredes musculares, nem a mucosa intestinal

(Figura 9). Porque não causa obstrução, nem causa uma forte interferência na motricidade intestinal, a lesão não parece ter uma evidente sintomatologia associada. O seu interesse maior se restringe aos cirurgiões e aos patologistas.

Figura 9 – Fibrose peri-colônica esquistossomose. A lesão consiste num espessamento fibroso do tecido adiposo peri-colônico, causado por intensa deposição de ovos do *Schistosoma mansoni,* mas não compromete a luz intestinal, nem as camadas musculares do intestino

A lesão resulta da deposição maciça de ovos no tecido adiposo pericolônico e de uma forte reação inflamatória fibrosante, decorrente dos granulomas periovulares e dos focos de necrose no tecido adiposo (granuloma lipofágico).

Formas Ectópicas

Granulomas centrados por ovos de *S. mansoni* podem ser encontrados em locais os mais imprevisíveis, fora da circulação mesentérica ou pulmonar, como no sistema nervoso central, nos órgãos genitais, na pele, na tireóide, no coração, na supra-renal etc. Estas lesões são consideradas ectópicas. Por hábito, os granulomas no pâncreas são considerados também como lesões ectópicas, embora o órgão esteja dentro da circulação mesentérica. Tais lesões podem ser causadas pela embolização de ovos que entraram fortuitamente na circulação sistêmica arterial (Tabela 3).

Assim, os granulomas aparecem esparsos, e constituem mais uma curiosidade para o microscopista do que um problema para o clínico ou o paciente. Todavia, quando há migração de casais de vermes para sítios ectópicos, uma quantidade apreciável de ovos pode vir a ser depositada em locais restritos, e assim provocar lesões focais, expansivas, com importantes repercussões clínicas, a depender do local ou do

órgão atingido. De todas as lesões ectópicas, as que se destacam pela sua importância são aquelas que afetam o sistema nervoso central ou, mais precisamente, a medula espinhal. A chamada neuroesquistossomose pode resultar em paralisias e paresias dos membros inferiores, em distúrbios esfincterianos, com manifestações indistinguíveis daquelas de uma neoplasia medular expansiva.

Tabela 3 – Lesões ectópicas observadas durante exame de rotina em 232 necrópsias em portadores de esquistossomose hepatoesplênica

Localização	N.	%
Pâncreas	28	12,0
Rim	13	5,6
Linfonodos abdominais	10	4,3
Testículos	9	3,9
Coração	9	3,9
Cérebro	8	3,4
Tireóide	5	2,2
Supra-renais	2	0,9

Obs: esôfago, medula espinhal, cerebelo, plexo coróide, timo, hipófise, útero, bexiga, baço e ovário: uma vez cada.

Fonte: Andrade & Bina (1983).

Neuroesquistossomose

Os ovos de *S. mansoni* podem atingir qualquer parte do sistema nervoso central do homem por uma eventual embolização arterial, causando lesões granulomatosas esparsas, isoladas, geralmente sem maiores repercussões clínicas. Mas, em casos mais raros, pode ocorrer uma migração anômala de casal ou casais de vermes, através do plexo paravertebral de Batson, e aí pode a medula espinhal, e mesmo o encéfalo serem atingidos por uma deposição focal e intensa de ovos, daí resultando lesões graves (Ferrari, 1999; Ferrari et al., 1993).

PERSPECTIVAS

A patologia da esquistossomose humana, no que pese as transformações que resultaram numa nítida diminuição da morbidade e mortalidade desta doença parasitária, mercê dos progressos terapêuticos e de melhorias ambientais, ainda contém muitos aspectos que desafiam e estimulam os estudos. Um deles diz respeito ao fenômeno da regressão da forma hépato-esplênica, que passou a ser muito bem documentado quando novas e eficazes drogas surgiram para a quimioterapia da parasitose. Espera-se que os estudos em torno deste assunto ainda podem trazer um aporte considerável de dados tanto para o campo da medicina tropical, como para a biologia geral. Tomado a princípio como um assunto relacionado com a degradação e desaparecimento da fibrose periportal, o assunto envolve o campo da remodelação do tecido fibrose e das suas estruturas vasculares, abrindo espaço para os estudos sobre re-organização de tecidos lesados em geral.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA-MELO, C. R.; GRIMAUD, J. A. & ANDRADE, Z. A. Changes in the rat liver induced by total portal vein ligation. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 16: 49-53, 1983.

ALVES, C. A. P. et al. Hepatic artery hypertrophy and sinusoidal hypertension in advanced schistosomiasis. *Gastroenterology*, 72: 126-128, 1977.

ANDRADE, Z. A. Hepatic schistosomiasis. Morphological Aspects. In: POPPER, H. & SCHAFFNER, F. (Ed.) *Progress in Liver Diseases*. New York Grune & Sttraton, 1965. v. 2.

ANDRADE, Z. A. Pathogenesis of pipe-stem fibrosis of the liver. (Experimental observation on murine schistosomiasis). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* , 82: 325-334, 1987.

ANDRADE, Z. A. Patologia da forma hépato-esplênica. In: CASTRO, L. P.; ROCHA, P. R. S. & CUNHA, A. S. (Orgs.) *Tópicos em Gastroenterologia*. Rio de Janeiro: Medsi, 1991.

ANDRADE, Z. A. The situation of hepatosplenic schistosomiasis in Brazil today. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93, supl. 1: 313-316, 1998.

ANDRADE, Z. A. Schistosomal hepatopathy. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99, supl. 1: 51-57, 2004.

ANDRADE, Z. A. & ABREU, W. N. Follicular lymphomas of the spleen in patients with hepatosplenic Schistosomiasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 20: 237-243, 1971.

ANDRADE, Z. A. & ANDRADE, S. G. Pathogenesis of pulmonary schistosomiasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 19: 305-310, 1970.

ANDRADE, Z. A. & AZEVEDO, T. M. A contribution to the study of acute schistosomiasis (an experimental trial). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82: 311-317, 1987.

ANDRADE, Z. A. & BINA, J. C. A patologia da forma hépato-esplênica da esquistossomose na sua forma avançada (Estudo de 232 necrópsias completas). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 78: 285-305, 1983.

ANDRADE, Z. A. & BINA, J. C. The changing pattern of pathology due to *Schistosoma mansoni* infection. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 80: 363-366, 1985.

ANDRADE, Z. A. & CHEEVER, A. W. Alterations of the intrahepatic vasculature in hepatosplenic schistosomiasis mansoni. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 20: 425-432, 1971.

ANDRADE, Z. A. & MELO, I. S. Fibrose peri-intestinal esquistossomótica. *Revista de Patologia Tropical*, 2: 143-151, 1974.

ANDRADE, Z. A. & PRATA, A. Asymptomatic schistosomiasis studied by needle biopsy of the liver. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 5: 236-242, 1963.

ANDRADE, Z. A. & ROCHA, H. Schistosomal glomerulopathy. *Kidney International*, 16: 23-29, 1979.

ANDRADE, Z. A. & RODRIGUES, G. Manifestações pseudoneoplásicas da esquistossomose intestinal. *Arquivos Brasileiros de Medicina*, 44: 437-444, 1954.

ANDRADE, Z. A. & VAN MARCK, E. Schistosomal glomerular disease. (A Review). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 79: 499-506, 1984.

ANDRADE, Z. A.; GUERRET, S. & FERNANDES, A. L. M. Myofibroblasts in schistosomal portal fibrosis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94: 87-93, 1999.

ANDRADE, Z. A. et al. Schistosomiasis mansoni and viral hepatitis B hepatitis in woodchucks. *Journal of Hepatology*, 34: 134-139, 2001.

ARMBRUST, A. F. et al. Estenoses esquistossomóticas do intestino Delgado. *Revista Paulista de Medicina*, 62: 265-271, 1963.

BICALHO, A. S. A forma tumoral da esquistossomose mansônica. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 24: 31-35, 1978.

BINA, J. C. & PRATA, A. Regressão da hepatosplenomegalia pelo tratamento específico da esquistossomose. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 16: 213-218, 1983.

BOGLIOLO, L. Anatomic picture of the liver in hepatosplenic schistosomiasis mansoni. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 51: 1-14, 1957.

CARMO, E. H. & BARRETO, M. L. Esquistossomose mansônica no Estado da Bahia, Brasil: tendências históricas e medidas de controle. *Cadernos de Saúde Pública*, 10: 425-439, 1994.

CHEEVER, A. W. A quantitative post mortem study of schistosomiasis mansoni in man. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 17: 38-64, 1968.

CHEEVER, A. W. & ANDRADE, Z. A. Pathological lesions associated with *Schistosoma mansoni* infection in man. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 61: 629-639, 1967.

CHEN, M. G. et al. Hepatitis B and Schistosomiasis: interaction or no-interaction? *Tropical Diseases Bulletin*, 90: 97-115, 1993.

COELHO, P. M. et al. *Schistosoma mansoni*: exacerbation of inflammatory granulomatous response in mice chronically infected and submitted to re-infection. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 38: 303-305, 1996.

CORREIA, E. I. S.; MARTINELLI, R. P. & ROCHA, H. Está desaparecendo a glomerulopatia da esquistossomose? *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 30: 341-343, 1997.

COURA, J. R. Follow up of patients with Schistosomiasis living in non-endemic area in Brazil. *Brasília Médica*, 2: 45-47, 1975.

COUTINHO, A. Editorial: a new dynamic approach to the diagnosis of Symmers fibrosis in schistosomiasis by ultrasound. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 32: 73-77, 1990.

ELTOUM, I. A. et al. Lack of correlation between schistosomiasis and hepatitis B vírus infection in Gezira-Managil área, Sudan. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 85: 81-82, 1991.

FERRARI, T. C. A. Spinal cord schistosomiasis: a report of 2 cases and review emphasizing clinical aspects. *Medicine*, 78: 176-190, 1999.

FERRARI, T. C. A. et al. Clinical and immunological study of schistosomal myeloradiculopathy. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 87: 295-297, 1993.

FREITAS, C. R. L. et al. Pathology of the spleen in hepatosplenic schistosomiasis. Morphometric evaluation and extracellular matrix changes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94: 815-822, 1999.

GAFFAR, Y. A. et al. The impact of endemic Schistosomiasis on acute viral hepatitis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 45: 743-750, 1991.

GRIMAUD, J. A. & BOROJEVIC, R. Myofibroblasts imn hepatic schistosomal fibrosis. *Experiência*, 33: 890-892, 1977.

GUIMARÃES, R. X. et al. Sistemas antigênicos da hepatite B na esquistossomose mansônica. *Arquivos de Gastroenterologia*, 18: 145-151, 1981.

HOMEIDA, M. et al. Diagnosis of pathologically confirmed Symmers' periportal fibrosis by ultrasonography: a prospective blinded study. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 38: 87-92, 1988.

HYATT, R. A. et al. Factors in the pathogenesis of acute schistosomiasis mansoni. *The Journal of Infectious Diseases*, 139: 659-666, 1979.

KEPHART, G. M.; ANDRADE, Z. A. & GLEICH, G. J. Localization of eosinophil major basic protein onto eggs of *Schistosoma mansoni* in human pathologic tissue. *The American Journal of Pathology*, 133: 389-396, 1988.

LYRA, L. G.; REBOUÇAS, G. & ANDRADE, Z. A. Hepatitis B surface antigen carrier state in hepatosplenic Schistosomiasis. *Gastrenterology*, 71: 641-645, 1976.

MOHAMED-ALI, Q. et al. Ultrasonographic investigation of periportal fibrosis in children with *Schistosoma mansoni* infection: reversibility of morbidity seven months after treatment with praziquantel. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 44: 444-451, 1991.

NEVES, J. & LOBO MARTINS, N. R. L. Long duration of septicaemic salmonellosis: 35 cases with 12 implicated species of salmonella. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 61: 541-552, 1967.

NEVES, J. & RASO, P. Estudo anátomo-clínico de um caso da forma toxêmica da esquistossomose que evoluiu para a forma hépato-esplênica em 130 dias (fibrose de Symmers). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 7: 256-266, 1965.

PAES, R. A. P. & MARIGO, C. Linfoma follicular gigante e esquistossomose mansônica. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 23: 287-292, 1981.

PEARCE, E. J. et al. Downregulation of Th1 cytokine production accompanies induction of Th2 responses by a parasitic helminth, *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Experimental Medicine*, 173: 159-166, 1991.

PRATA, A. Fatores determinantes das formas anátomo-clínicas e evolução da esquistossomose. In: CASTRO, F. P.; ROCHA, P. R. S. & CUNHA, A. S. (Orgs.) *Tópicos em Gastroenterologia*. Rio de Janeiro: Medsi, 1991.

PRATA, A. & ANDRADE, Z. A. Fibrose de Symmers sem esplenomegalia. *O Hospital*, 63: 617-623, 1963.

RAMOS, E. A. G. & ANDRADE, Z. A. Chronic glomerulonephritis associated with hepatosplenic schistosomiasis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 29: 162-167, 1987.

RAMOS, O. L.; SAAD, F. & LESSER, W. P. Portal hemodynamics and liver cell functionin hepatic Schistosomiasis. *Gastroenterology*, 47: 241-247, 1964.

RASO, P. & NEVES, J. Contribuição ao conhecimento do quadro anatômico do fígado na forma toxêmica da esquistossomose mansônica através de punções-biopsias. *Anais da Faculdade de Medicina de Minas Gerais*, 5: 147-165, 1965.

RICHTER, J. The impact of chemotherapy on morbidity due to schistosomiasis. *Acta Tropica*, 86: 161-183, 2003.

ROCHA, D. *Interação da Esquistossomose Hépato-Esplênica com a Hepatite Viral. Aspectos Anátomo-Patológicos e da Resposta Imune*, 1998. Tese de Doutorado, Niterói: Departamento de Patologia, Universidade Federal Fluminense.

SADIGURSKY, M. & ANDRADE, Z. A. Pulmonary changes in schistosomal *cor pulmonale*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 31: 779-784, 1982.

SANTOS, A. B. A.; SOUZA, M. M. & ANDRADE, Z. A. Reinfecções e desenvolvimento da fibrose periportal esquistossomótica no modelo murino. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 33: 197-200, 2000.

SCHMAUZ, R.; MUGERWA, J. W. & WRIGHT, D. H. The distribution of non-Burkitt, non-Hodgkin's lymphomas in Uganda in relation of malarial endemicity. *International Journal of Cancer*, 45: 650-653, 1990.

SILVA, L. M. et al. Comparison of immune responses of *Schistosoma mansoni*-infected mice with distinct chronic forms of the disease. *Acta Tropica*, 91: 189-196, 2004.

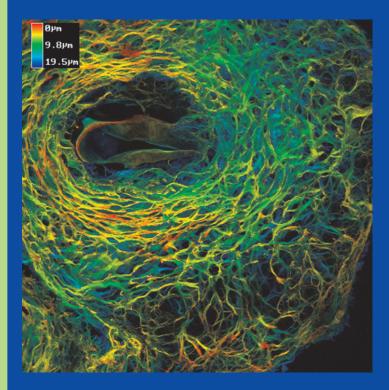
SILVA, L. M. S. et al. Characterization of the vascular changes in schistosomal portal (pipestem) fibrosis of mice. *Acta Tropica*, 98: 34-42, 2006.

SYMMERS, W. S. T. C. Note on a new form of liver cirrhosis due to the presence of the ova of *Bilharzia haematobia*. *Journal of Pathology and Bacteriology*, 9: 237-239, 1904.

TEIXEIRA, R. Enterobacteriose septicêmica prolongada. In: CASTRO, F. P.; ROCHA, P. R. S. & CUNHA, A. S. (Orgs.) *Tópicos em Gastroenterologia*. Rio de Janeiro: Medsi, 1991.

YOUNG, S. W. et al. Interaction of salmonellq and schistosomes in host parasite relations. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 67: 797-799, 1973.

19 Patologia Experimental com Enfoque no Granuloma Esquistossomótico

Henrique Leonel Lenzi
Waldemiro de Souza Romanha
Marcelo Pelajo Machado
Ester Maria Mota
Jane Arnt Lenzi

Granuloma exsudativo-produtivo hepático murino, centrado por ovo de *Schistosoma mansoni*, mostrando a arquitetura do arranjo colagênico em suas diferentes camadas (microfotografia em código de cores, obtida por microscopia confocal a laser).

A patologia experimental da esquistossomose mansoni tem se desenvolvido muito com o estudo de camundongos geneticamente modificados para determinados genes (nocauteados ou transgênicos), ou com o estudo de diversos animais, como primatas e outros mamíferos diferentes de camundongos. Contudo, convém destacar que cada animal reage de uma forma particular à infecção esquistossomótica, nunca se igualando à infecção humana. Além disso, a experimentação simplifica e controla os fenômenos envolvidos no estudo, alterando sistematicamente algumas variáveis e mantendo constantes outras que poderiam se modificar em condições normais de ocorrência da doença, tendo sempre um enfoque reducionista (Rose, 2001). O uso de animais geneticamente modificados tem sido aplicado também de modo reducionista e linear, não levando em consideração que, quando a função integral dos genes num organismo é alterada, essa alteração é provavelmente muito mais desvantajosa, uma vez que envolve modificações de um modelo biológico que resultou de um longo processo evolutivo (Grisolia, 2005). Ou seja, a violação da integridade genética determina conseqüências às vezes imprevisíveis, e que deveriam ser analisadas de forma mais integral ou sistêmica, levando em consideração, inclusive, aspectos éticos (Grisolia, 2005). A esquistossomose, apesar de envolver mais fígado e intestinos, atinge diretamente muitos outros órgãos (pulmões, pâncreas, rins, sistema nervoso central, órgãos linfo-hematopoéticos e outros) e provoca alterações sistêmicas, com profunda repercussão sobre o sistema hematopoético ou linfo-hematopoético. As alterações patológicas fundamentais são fibrose portal, alterações vasculares e granuloma periovular. O granuloma periovular apresenta quatro propriedades (agregação, não-linearidade, fluxos, diversidade) e três mecanismos (rotulagem, modelos internos e blocos de construção) comuns a todos os sistemas adaptativos complexos. Como tal, é também passível de modelagem matemática (granuloma *in sílico*). O granuloma sofre modulação intrínseca (constrições internas e neuroimunomodulação intrínseca) e extrínseca (por influência do sistema imunitário, varia em seus aspectos e características modulatórias) conforme o ambiente (órgão) em que se situa, e exibe um componente autopoético (Lenzi et al., 2006). Este capítulo propõe algumas novas perspectivas no estudo da esquistossomose, como aplicar metodologias mais abrangentes e análises sistêmicas ao grande volume de dados existentes e a serem obtidos, modificar a forma de ver o fígado (que também é um órgão imunoprivilegiado e um compartimento neuroendócrino) e dar mais atenção às adipocinas.

TIPOS DE ANIMAIS EMPREGADOS EXPERIMENTALMENTE

A esquistossomose mansoni foi e vem sendo estudada experimentalmente em vários modelos animais, como:

- camundongos geneticamente diferentes (*outbred*), geneticamente idênticos (*inbred*), livres de germes (*germfree*) (Bezerra et al., 1985; Vieira & Moraes-Santos, 1987; Vieira, Moraes-Santos & Vieira, 1985), imunodeficientes, transgênicos, destituídos de genes definidos (*knock-out* = nocaute) tratados com citocinas ou com anticorpos anticitocinas;
- outros tipos de roedores, como a marmota (*Marmota monax*) (Andrade, 2004); *Calomys callosus* (Lenzi JA et al., 1995, 2002); *Nectomys squamipes* (Rodrigues e Silva et al., 1992; Maldonado et al., 1994; Costa-Silva et al., 2002); *Mastomys coucha* (Dettman & Higgin-Opitz, 1989); rato-de-laboratório; *Rattus rattus*; *Mesocricetus auratus* (*hamster*); *Pachyuromys duprasi natronensis* (*gerbil*); *Sciurus carolensis* (esquilo cinzento); *Tamias striatus* (tâmia); *Myocaster coypus* (nútria); *Microtus pennsylvanicus* (ratazana de prado); *Onondatra zibethicus* (rato almiscarado); cobaia; *Dasyprocta aguti* (cutia) (Cheever et al., 2002);
- primatas: *Pan satirus* (chimpanzé), *Papio anubis* (babuíno), *Cercopithecus aethiops* (macaco cercopiteco), *Cebus apella* (cebo ou macaco-prego), *Macaca mulatta* (Rhesus), *Aotus trivirgatus* (Aotus), *Macaca speciosa* (macaco com cauda curta), *Macaca cynomolgus*, *Saimiri sciureus* (macaco-esquilo), *Callithrix* sp (sagüi), *Tupaia* sp, *Saguinus fuscillis* (tamarim) *Ateles geoffroyi* (macaco-aranha), *Papio cynocephalus cynocephalus* e *P. c. anúbis* (Cheever et al., 2002);
- outros mamíferos, como *Sylvilagus floridanus* (coelho) (Andrade, Ramos & Reis, 1988), *Didelphis marsupialis* (gambá), *Dasypus novemcinctus* (tatu), *Procyon lotor* (racoon), *Mephitis nigra* (doninha-fedorenta), *Vulpes fulva* (raposa vermelha) e bovino (Modena et al., 1993; Karoum & Amin, 1985; Coelho et al., 1982).

Referências sobre cada um desses modelos, além das já citadas, podem ser encontradas no artigo de revisão sobre modelos experimentais de Cheever et al. (2002).

LIMITAÇÕES DOS MODELOS EXPERIMENTAIS

Metodológicas

É importante ter em mente que cada modelo experimental tem suas peculiaridades que não podem ser transpostas para a patologia humana (Figura 1). Cheever et al. (2002) teceram alguns comentários que devem ser levados em consideração na interpretação de resultados obtidos com modelos experimentais:

- a intensidade das infecções esquistossomóticas é geralmente extremamente alta. Um único par de vermes adultos de *Schistosoma mansoni* num camundongo pode equivaler a mais que mil pares numa pessoa infectada (Cheever, 1969; Gryseels & de Vlas, 1996). As mais intensas infecções humanas relatadas em necrópsias raramente apresentavam mais que cinco casais de vermes por quilograma de peso corporal, enquanto que, em camundongos, as infecções mais leves estão na ordem de cinqüenta pares de vermes por quilograma de peso corporal (Cheever, 1969);

- a maioria das infecções esquistossomóticas em humanos é adquirida gradualmente no transcurso de anos, enquanto em grande parte das infecções experimentais é utilizada uma única exposição. Quando são empregados múltiplos inóculos em camundongos, a intensidade acumulativa da infecção torna-se progressivamente menos realista;
- a maioria dos humanos expostos à infecção é nascida de mães que estão ou foram infectadas. A exposição intra-uterina a antígenos ou a anticorpos antiidiotipos pode modificar a resposta a infecções subseqüentes em humanos (Eloi-Santos et al., 1989; Novato-Silva, Gazzinelli & Colley, 1992) e em camundongos (Montesano et al., 1997; 1999b; Lenzi JA et al., 2002);
- a cronicidade das infecções esquistossomóticas em humanos não é reproduzível na maioria dos modelos animais. Embora se possa predizer que uma ou duas semanas na vida de um camundongo sejam equivalentes há um ano em humanos, o cálculo de equivalência de tempo é incerto;
- enquanto isolados (cepas) distintos de *S. mansoni* comportam-se de modo diferente em hospedeiros de laboratório, não está claro se esses padrões de isolados são relevantes para infecções humanas. Isolados de esquistossomose aguda ou hepatoesplênica não induzem alterações patológicas diferentes em camundongos (Costa & Katz, 1982; Costa, Roche & Katz, 1984). Porém, Thiongo et al. (1997) encontraram diferenças na produção ovular e na passagem de ovos para as fezes em camundongos infectados com diferentes isolados quenianos de *S. mansoni*, e levantaram a possibilidade de essas diferenças interferirem nos tipos diversos de manifestações clínicas, em pessoas infectadas. Além disso, um determinado isolado pode provocar um padrão de infecção (ex: alta proporção de ovos no fígado) no camundongo (Anderson & Cheever, 1972) e um padrão diferente em macacos (Powers & Cheever, 1972). Em laboratório, podem, também, ocorrer rápidas alterações genéticas em vermes adultos e no padrão de isoenzimas de certos isolados, no transcurso de gerações sucessivas em camundongos (Loverde et al., 1985; Bremond et al., 1993; Pinto et al., 1997). Passagens no hospedeiro molusco podem também resultar em seleção genética dos vermes (Richards & Shade, 1987).

Conceituais

O primeiro passo da experimentação consiste em simplificar e controlar os fenômenos envolvidos no estudo; o segundo, em alterar sistematicamente algumas variáveis e manter constantes as demais (Rose, 2001). Conseqüentemente, a experimentação tem um enfoque reducionista porque trata de isolar alguns aspectos do fenômeno em estudo e alterar, uma a uma, as condições que se imaginam que possam interferir no estudo (Rose, 2001). Portanto, a experimentação é inexoravelmente artificial e varia, não só de modelo para modelo, mas de experimento para experimento. Daí a grande confusão e variabilidade de dados que existem na literatura sobre determinados assuntos. Em esquistossomose, esse aspecto é facilmente perceptível nos estudos imunológicos. Porém, no mundo real fora do laboratório, muitas coisas mudam simultaneamente, ficando mais difícil distinguir parâmetros e variáveis. Os experimentos eficazes requerem os controles artificiais impostos pela metodologia redutora do experimentador (Rose, 2001). No item Perspectivas, serão apresentadas algumas metodologias, tais como aquelas que utilizam autômato celular e rede neural, para contornar, em parte, esse problema, conforme propostas da biologia de sistemas.

ÓRGÃOS ENVOLVIDOS NA INFECÇÃO ESQUISTOSSOMÓTICA

A esquistossomose humana e experimental é uma doença sistêmica, podendo comprometer vários compartimentos do organismo envolvido, como fígado, baço e outros órgãos hemolinfopoéticos (medula óssea, linfonodos e manchas lácteas omentais e mesentéricas), intestino, retroperitônio, pâncreas, pulmões, rins, sistemas genitais masculino e feminino, medula espinal, sistema nervoso central, pele, órgão dos sentidos, glândulas endócrinas e outros (Raso & Bogliolo, 1970). Porém, a maioria dos estudos se concentra nas alterações hepáticas e intestinais e, baseado em material humano, três alterações patológicas merecem mais destaque: presença de granulomas, fibrose de Symmers e alterações vasculares (Bogliolo, 1957; Raso & Bogliolo, 1970; Alves et al., 1977; Andrade, 1965, 2004; Andrade & Cheever, 1971).

FIBROSE DE SYMMERS EM MODELOS EXPERIMENTAIS

A fibrose de Symmers é uma lesão representada por expansão fibrosa sistematizada dos espaços porta, acompanhada de lesões destrutivas e obstrutivas do sistema da veia porta intra-hepático, mas com preservação da arquitetura normal do parênquima (ver capítulo 18, 'A Patologia da Esquistossomose Humana'). Acompanha-se de neoformação conjuntivo-vascular intensa, formando, em torno dos ramos portais dicotômicos (da segunda até a quarta ordem), uma vasta rede capilar que os envolve à guisa de manguito (Raso & Bogliolo, 1970; Andrade & Cheever, 1971). O chimpanzé constitui o único modelo animal que exibe, quando infectado, um quadro parecido com a fibrose de Symmers em humanos, sem desencadear, porém, hipertensão portal (Sadun et al., 1970), provavelmente devido à formação de extensas colaterais porto-sistêmicas. Njenga et al. (1998) e Nyindo & Farah (1999) descreveram, mas sem ilustrar de modo convincente, fibrose tipo-Symmers em babuínos. Embora, segundo Njenga et al. (1998), estudos prévios com babuínos quenianos tenham fracassado em demonstrar o desenvolvimento de fibrose apreciável, ao analisar fígados de três babuínos amarelos (*Papio cynocephalus cynocephalus*) com infecção natural e três babuínos verde-olivas (*P. c. anubis*) infectados experimentalmente e após desafiados com mil cercárias, detectaram fibrose periportal, caracterizada por acentuado acúmulo de fibroblastos, aumento da deposição de colágeno, hiperplasia ductal e proliferação vascular. Essas lesões eram mais graves nos babuínos naturalmente infectados do que nos do grupo experimental. Porém, nenhum deles exibiu sinais de hipertensão portal.

A patogenia da fibrose de Symmers ainda não está totalmente esclarecida e a razão pela qual apenas alguns indivíduos (de 4% a 10%), vivendo em áreas de alta endemicidade para a esquistossomose, desenvolvem a forma hepatoesplênica da doença não é conhecida (Carvalho & Andrade, 2005). Porém, estudos têm demonstrado que a constituição genética do hospedeiro contribui de forma relevante para uma maior susceptibilidade ao desenvolvimento de fibrose periportal. Neste sentido, foi identificado um gene principal de susceptibilidade, mapeado no cromossomo 6 (6q22-q23), próximo do gene codificante da cadeia-alfa do receptor de interferon-gama (gene do receptor R1 de IFN-gama) (Dessein et al., 1999). Os baixos produtores de interferon-gama têm maior risco de desenvolver fibrose periportal acentuada (Chevillard et al., 2003). Segundo Raso & Bogliolo (1970), a lesão que desencadeia a neoformação conjuntivo-vascular, o *primum movens* de todo o processo que caracteriza fundamentalmente a forma de Symmers, é a inflamação crônica granulomatosa, sempre relacionada com os ovos de *S. mansoni*. De fato, parece haver certo consenso de

que a carga parasitária e as reinfecções estão entre os fatores principais apontados (Carvalho & Andrade, 2005). Todavia, segundo Cheever (1965a), as infecções maciças presentes em camundongos desencadeiam hipertensão portal relacionada ao número e tamanho dos granulomas, fato que parece não ser relevante para o mecanismo de hipertensão portal em humanos. O estudo do comportamento da árvore vascular portal por intermédio de moldes plásticos mostra que o evento inicial é a destruição de finos vasos portais, na periferia do sistema porta, por numerosos ovos embolizados. Segue-se uma adaptação do sistema, com uma dilatação de finos ramos periportais, os quais, se a produção de ovos continuar em ritmo adequado, vão sendo ocluídos pelos mesmos, que então passam a se concentrar em região periportal, provocando inflamação granulomatosa, angiogênese e fibrose (Andrade & Cheever, 1971; Silva, 2003).

Fibrose portal se assemelhando à fibrose de Symmers em humanos foi inicialmente descrita por Warren (1966) em camundongos e posteriormente confirmada por Andrade (1987) e Andrade, Silva & Souza (1997). Todavia, há controvérsias se a fibrose periportal observada em camundongos com infecção prolongada por *S. mansoni* pode ser considerada uma verdadeira contrapartida da fibrose axial em humanos (*pipestem fibrosis*) Andrade (1987). Cheever (1965b) estudou o desenvolvimento da esquistossomose em diferentes tipos de roedores (camundongo, gerbil, rato e *hamster*) e estabeleceu que a fibrose portal observada em camundongo não se assemelha à fibrose axial em humanos.

Camundongos infectados com trinta cercárias (1-7 pares de vermes) desenvolvem, segundo Carvalho & Andrade (2005), dois tipos polares de patologia hepática:

- granulomas isolados e situados no parênquima hepático;
- granulomas, com fibrose perigranulomatosa, concentrados em espaços porta, provocando sua amplificação, determinando conexões porto-portais, com preservação do parênquima (forma tipo *pipestem*).

Por essa razão, apesar das diferenças com as lesões hepáticas em humanos, há motivos para se considerar o modelo murino como um potente recurso experimental (Andrade & Cheever, 1993). Esses dados sugerem que a fibrose portal, apesar de associada à presença de granulomas, tem um componente fibrogênico e vascular amplificado, cuja patogenia ainda é desconhecida. Cheever et al. (1987) mostraram que, em algumas linhagens de camundongos, há uma correlação positiva entre o tamanho dos granulomas e a fibrose por ovos no fígado. Todavia, a análise de correlação que embasa essa impressão não é rigorosa, desde que o teste assume que as variáveis não são dependentes da intensidade da infecção e a fibrose por ovo é dependente do número de casais de vermes adultos. Foi observado também que a dissociação entre o tamanho dos granulomas e a fibrose hepática, assim que a intensidade da infecção aumenta, é notável e indica diferenças em alguns fatores, que modulam essas duas variáveis, em camundongos infectados com *S. mansoni*. Lamentavelmente, o estudo da fibrose de Symmers, em material humano, tem sido limitado, os modelos experimentais não são de todo adequados, exigindo novas pesquisas, conforme especificado no item Perspectivas, deste capítulo.

ALTERAÇÕES VASCULARES

Conforme Raso & Bogliolo (1970), estudar a árvore portal intra-hepática praticamente equivale a estudar a anatomia patológica do fígado na forma de Symmers, pois a lesão básica desse órgão é essencialmente vascular. Ocorre, segundo esses autores, a formação de um manguito vascular neoformado, constituído por

inúmeros pequenos vasos estreitamente entrelaçados, formando uma rede rica e abundante, de malhas irregulares e muito estreitas, que acompanha os vasos e os envolve de modo sistemático. Segundo Raso & Bogliolo (1970), essa rede neoformada pode ser acompanhada de uma proliferação musgosa, envolvendo toda a árvore portal. Tal rede, em geral, não deriva, segundo esses autores, dos ramos dicotômicos, mas, predominantemente, dos ramúsculos não dicotômicos (vasos distributivos), que se originam ao longo de todos os ramos portais e que contribuem para a formação da rede periductal normal. Essa rede foi inicialmente descrita por Bogliolo (1955, 1957). Na forma de Symmers há, portanto, um enorme exagero dessa rede de origem portal. Segundo Andrade & Cheever (1971), essa rede contribui, com vasos colaterais, para regiões do fígado deficientes em suprimento vascular portal. Segundo eles, vasos dessa rede se comunicam com a artéria hepática e veia portal e, nesse sentido, considerando também sua localização, esses vasos se assemelham ao plexo peribiliar de vênulas normalmente presentes nos espaços porta, parecendo, portanto, originarem-se do plexo periductal. Andrade & Cheever (1971) observaram também um aumento no número e tamanho de ramos arteriais intra-hepáticos na esquistossomose hepatoesplênica, tendo este fato sido comprovado por estudos funcionais (Alves et al., 1977).

Trabalhos *in vivo* mostraram que a infecção esquistossomótica estimula células endoteliais na área externa do granuloma (Parise et al., 1985; Lenzi et al., 1998; Baptista & Andrade, 2005). Essa estimulação ocorre também em endotélio de veia porta em infecções unissexuais por vermes machos. Análise histológica desses casos mostrou alteração endotelial, formação de placas fibrosas subendoteliais e áreas focais de infiltrado inflamatório na adventícia. Funcionalmente, as infecções unissexuais com vermes machos, em camundongos, aumentaram a reatividade da veia porta à 5-hidroxitriptamina (5-HT) (Silva et al., 1998). Estudo posterior mostrou que infecções bissexuais aumentam também a constrição máxima da veia porta, como ocorre em infecções unissexuais com vermes machos (Silva et al., 2003). Demonstrou também esse efeito com acetilcolina, concluindo que a infecção esquistossomótica, em camundongos, altera a fisiologia da veia porta, exacerbando a constrição máxima de dois vasoconstrictores (5-HT e acetilcolina) e aumentando, possivelmente, a despolarização de membrana mediante abertura mais efetiva dos canais de cloreto dependentes de cálcio (ClCa) com o cálcio entrando no citossol através de canais de Ca^{2+} voltagem-dependentes do tipo L. A densidade desse tipo de canais de cálcio tipo L era maior em veias portais de camundongos infectados do que nos controles (Silva et al., 2003). Em células musculares lisas, o cálcio, ao ser mobilizado do retículo endoplasmático para o citossol, desencadeia constrição, portanto os mecanismos descritos por Silva et al. (1998, 2003) podem contribuir para o desencadeamento e/ou agravamento da hipertensão portal. Em *Calomys callosus* infectados com *S. mansoni,* aparecem nódulos subserosos com acentuada angiogênese, junto com fibrinogênese, definindo um excelente modelo para estudo *in vivo* da proliferação vascular induzida pela infecção (Lenzi JA et al., 1987) (ver subitem Nódulos na Serosa Intestinal e Granulomas Extratissulares na Cavidade Peritoneal).

Estudos *in vitro* procuraram identificar os possíveis fatores estimulantes da neovascularização endotelial descrita *in vivo*. De fato, Freedman & Ottesen (1988) observaram que o antígeno ovular solúvel (SEA) de *S. mansoni*, na concentração baixa de até 30 ng/mL, era capaz de induzir acentuada proliferação de células endoteliais derivadas de veia umbilical humana (Huvec), adrenal bovina ou pulmão de camundongo. Ovos intactos de *S. mansoni* secretavam um fator solúvel que estimulava endotélio de veias umbilicais humanas de forma semelhante ao SEA. Em contraste, extratos de vermes adultos de *S. mansoni* não exerciam nenhum efeito proliferativo significativo nas três linhagens endoteliais testadas. Loeffler et al. (2002) confirmaram que SEA ou ovos vivos de *S. mansoni* aumentavam a formação de tubos (crescimentos tipo capilares

endoteliais) em Huvec e diminuição do grau de apoptose após privação de soro ou de fatores de crescimento. Concluíram que produtos secretados pelo ovo de *S. mansoni* podem promover a angiogênese em granulomas hepáticos, pela regulação positiva do fator de crescimento do endotélio vascular (Vegf = *vascular endothelial growth factor*) produzido por células endoteliais. Kanse et al. (2005) purificaram parcialmente um fator pró-angiogênico derivado do ovo de *S. mansoni*, de ação rápida, estável ao calor, resistente à protease, fracamente ligante à heparina e não lipídico. Como a interação de *S. mansoni* com a vasculatura pulmonar é crítica em determinar o seguimento da infecção, Angeli et al. (2001) relataram que esquistossômulos de pulmão induzem seletivamente a síntese de RNAm de IL-6 e de proteínas em culturas de células endoteliais de pulmão de origem humana e de camundongo. Compostos lipofílicos, derivados da excreção/secreção do esquistossômulo, particularmente prostaglandina E_2, foram considerados responsáveis por esse efeito. Esse aumento acentuado da expressão de IL-6 também ocorre *in vivo* na microvasculatura pulmonar de camundongos C57BL/6 infectados por *S. mansoni*, sugerindo que, *in vivo*, os parasitos induzem a síntese de IL-6 em células endoteliais pulmonares. Em animais infectados e nocauteados para IL-6 ocorre uma mobilização acelerada de eosinófilos para o tecido pulmonar e de leucócitos, particularmente eosinófilos, para as vias aéreas. Esse efeito, segundo Angeli et al. (2001), está associado a um aumento na produção de eotaxina (CCL11) e IL-5 nos pulmões dos animais deficientes em Il-6. Esses autores observaram também um aumento acentuado na mortalidade dos esquistossômulos pulmonares nos animais nocauteados, quando comparados com os controles, sugerindo que o parasito ativa as células endoteliais para produzir IL-6, criando um mecanismo de escape da reação inflamatória que se desenvolve nos pulmões dos animais infectados. A síntese de IL-6 induzida pelo parasito é mediada pela via dependente da proteína quinase-A, que tem como alvos principais sítios do elemento da resposta AMPc e o fator nuclear κ-B (NF-κB) da região -256/+20 do gene promotor da IL-6. Usando essa mesma via metabólica, interferindo com NF-κB, esquistossômulos de *S. mansoni* reduzem a expressão de selectina-E e VCAM-1 em células endoteliais da microvasculatura pulmonar estimuladas por TNF-α (Trottein et al., 1999b). Em síntese, os esquistossômulos modulam o endotélio pulmonar para um fenótipo antiinflamatório (Trottein et al., 1999a). Roye et al. (1998), usando coculturas *in vitro*, mostraram que larvas de *S. mansoni* desencadeavam a produção de IL-7 por células endoteliais oriundas de microvasculatura dérmica humana, e não exerciam esse efeito em queratinócitos. *In vitro*, células endoteliais imortalizadas de cérebro de camundongos 129/J, quando ativadas por interferon-γ (IFN-γ) mais fator de necrose tumoral-α (TNF-α), ou IFN-γ ou TNF-α mais IL-1α ou IL-1β, aumentavam a produção de óxido nítrico, resultando na morte de larvas recém-transformadas ou com uma ou duas semanas após o inóculo (Oswald et al., 1994). Alguns estudos mostraram que o próprio ovo de *S. mansoni* interage diretamente com células endoteliais *in vitro*, através de um processo ativo modulado por moléculas secretadas pelo ovo e por plaquetas (Ngaiza, Doenhoff & Jaffe, 1993). A adesão do ovo a células endoteliais *in vitro* é facilitada em endotélio ativado por IL-1 e conta com a participação de carboidratos do ovo (Lejoly-Boisseau et al., 1999).

REAÇÃO GRANULOMATOSA (GRANULOMA PERI-OVULAR)

Granuloma como Exemplo de Sistema Biológico Complexo e Possível Alvo de Modelagem Matemática

A esquistossomose por *S. mansoni* é uma infecção ou doença resultante da penetração de cercárias pela pele, as quais se convertem em esquistossômulos, passam pelos pulmões e, após vários circuitos

migratórios na corrente sanguínea, estabelecem-se no interior de vasos venosos do fígado, onde amadurecem para vermes adultos machos e fêmeas. Estes, após acasalamento, migram, por mecanismos desconhecidos, contra a corrente circulatória, alojando-se em vasos venosos mesentéricos, próximos ao intestino, onde colocam ovos. Parte dos ovos é eliminada pelo lúmen intestinal e parte fica retida em vários órgãos (parede intestinal, fígado, pâncreas, pulmões e outros), provocando uma reação inflamatória peculiar, chamada de reação granulomatosa ou granuloma (Figuras 1, 2). O granuloma esquistossomótico é uma coleção compacta e organizada de células migrantes, que junto com células do órgão afetado, dispõem-se em meio a componentes de uma matriz extracelular heterogênea, formando uma estrutura esférica, que circunda cada ovo individualmente. Por essa razão, o ovo, neste caso, é rotulado como o agente granulomatogênico, isto é, capaz de provocar a reação granulomatosa por liberação, para o tecido adjacente, de vários componentes próprios, em geral glicoproteínas (Figura 3). O granuloma esquistossomótico constitui o melhor exemplo existente na literatura sobre reação granulomatosa provocada por agente extracelular (Lenzi et al., 1991), que é o ovo. O miracídio, forma larval que está no interior do ovo, tem uma vida média em torno de 21 dias (Prata, 1957). Portanto, o granuloma esquistossomótico é uma estrutura dinâmica que tem início, meio e fim, caracterizando morfologicamente fases de amadurecimento (fase neguentrópica de crescimento) e de involução (fase entrópica).

O granuloma esquistossomótico está perfeitamente ajustado ao conceito de caos estruturado (Demo, 2002; Lenzi & Romanha, 2003). É caótico porque apresenta propriedades não lineares, e é estruturado pelo fato que evolui de uma aparente desordem (estágio pré-granulomatoso) para um arranjo muito bem organizado (estágio granulomatoso). Em trabalho anterior, Lenzi & Romanha (2003) demonstraram que o granuloma esquistossomótico satisfaz às seguintes características de sistemas complexos:

- dinamismo;
- reconstrução e irreversibilidade;
- homeostasia;
- auto-organização.

Neste trabalho, será mostrado, tendo como base a proposta de Holland (1995) para sistemas complexos adaptativos (SAC), que o granuloma esquistossomótico exibe também as quatro propriedades e os três mecanismos comuns a todos os SACs. Os principais exemplos de SAC compreendem evolução (biologia evolutiva), sistema nervoso central, sistema imunológico, ontogênese (biologia do desenvolvimento), reação inflamatória (aguda e crônica), linguagem e internet. A coerência e persistência de cada sistema dependem de amplas interações, da agregação de diversos elementos e do aprendizado e adaptação. Mesmo que cada um dos sistemas apresente diferenças em detalhes, todos exibem o enigma central de manter a 'coerência durante as mudanças' (Holland, 1995). O granuloma se encaixa como um tipo especial de reação inflamatória crônica, na qual o comportamento do todo é mais do que a simples soma do comportamento das partes. O seu comportamento depende da interação em rede dos agentes que o compõem (células, produtos celulares e elementos da matriz extracelular). Os agentes, ao se agregarem, podem adicionar novos níveis de hierarquia à organização do granuloma, como será mostrado a seguir. De acordo com Holland (1995), os sete aspectos básicos dos SACs são subdivididos em quatro propriedades (agregação, não-linearidade, fluência e diversidade) e três mecanismos (rotulagem ou *tagging*, modelos internos implícitos e explícitos e blocos de construção ou montagem).

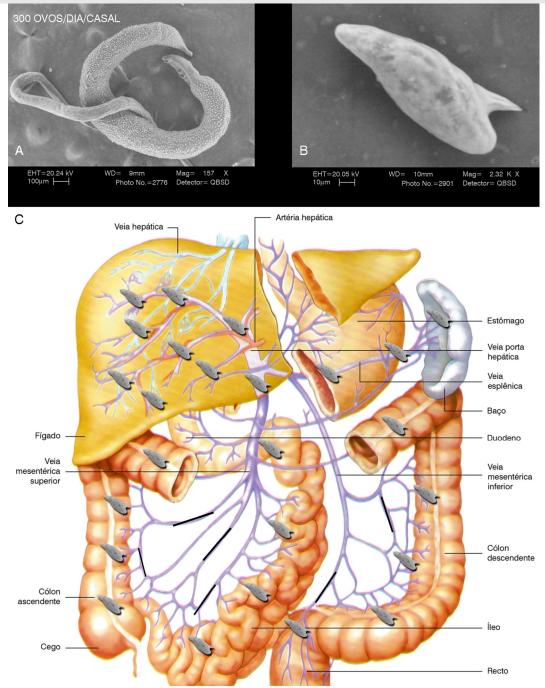
Figura 1 – A: Casal de vermes adultos de *Schistosoma mansoni* vistos em microscopia de varredura a baixo vácuo. A fêmea é bem mais delgada que o macho e mostra a superfície lisa. O macho, por sua vez, exibe a superfície dorsal repleta de tubérculos e em sua extremidade anterior são visualizadas as ventosas oral e ventral. Cada casal produz, em média, trezentos ovos por dia. B: Característica do ovo de *Schistosoma mansoni*, com a espícula lateral. C: Esquema mostrando a localização de vermes adultos em vasos mesentéricos (linhas pretas) e de ovos de *Schistosoma mansoni* em intestino delgado e grosso, fígado e baço

Fonte: Esquema do sistema porto-hepático-mesentério. *Dicionário Visual do Corpo Humano* (1994).

Figura 2 – A: Visão panorâmica das vísceras abdominais de um camundongo *Swiss Webster* infectado com *Schistosoma mansoni*, mostrando fígado escurecido pela presença de grande quantidade de pigmento esquistossomótico e granulomas na serosa intestinal e na superfície do baço, aumentado significativamente de tamanho (esplenomegalia). B: Grande quantidade de granulomas em fígado (infecção crônica). C: Detalhe de granulomas em fígado, centrados por um ou dois ovos, mostrando a presença de vasos anormais nas adjacências (seta branca) e na região periférica (setas vermelhas) (estereomicroscopia)

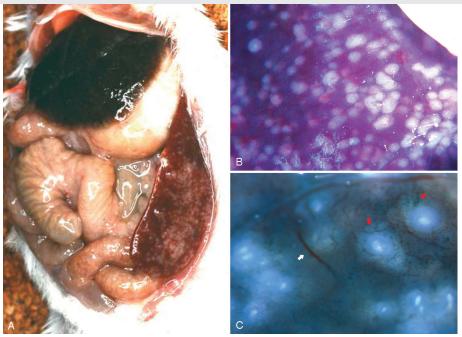
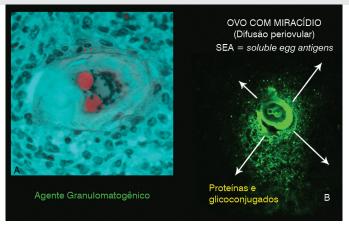



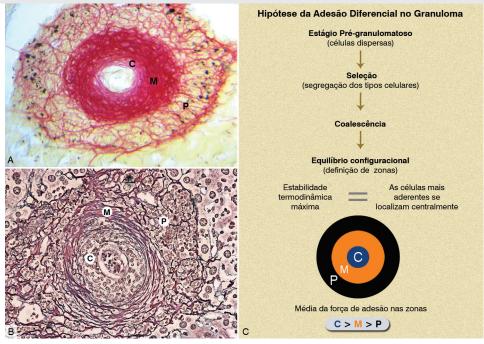
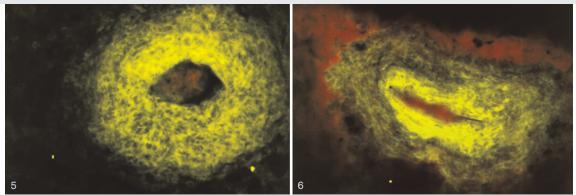
Figura 3 – A: Ovo de *Schistosoma mansoni*, no centro de granuloma hepático de *Swiss Webster*, com miracídio viável, que atua como agente granulomatogênico, apresentando as duas glândulas laterais (em vermelho) e a massa neural com as células ganglionares periféricas. B: Difusão periovular, para o interior do granuloma, de material antigênico ovular (SEA) revelado por imunofluorescência indireta com soro de animal cronicamente infectado

Agregação

A formação do granuloma envolve interações dinâmicas e intrincadas entre célula-célula e célula-matriz, que podem ser homo (moléculas idênticas) ou heterotípicas (moléculas diferentes). De uma fase inicial desordenada, as células começam a arranjar-se em agregados selecionados (*sorting*), formando agregados hierárquicos, denotando emergência da ordem a partir de uma desordem inicial (fase pré-granulomatosa). Participam várias famílias de moléculas de adesão celular (*cellular adhesion molecules* = CAMs) e de moléculas de adesão ao substrato matricial (*substrate adhesion molecules* = SAMs). Na fase madura do granuloma, chamada fase exsudativa-produtiva, caracterizada por uma grande riqueza de células migrantes (componente exsudativo) e locais (fibroblastos e miofibroblastos), que produzem vários componentes da matriz extracelular (componente produtivo), o granuloma mostra um arranjo em três zonas distintas: central, para-central e periférica (Figuras 4a, 4b, 4c). Esse comportamento pode ser explicado pela hipótese da adesão diferencial (Steinberg, 1996). Essa hipótese postula que cada tipo de célula tem uma energia de adesão característica que, numa população mista, resulta em camadas celulares arranjadas concentricamente, devido a diferenças entre forças de adesão celular (Figura 4c). Em outras palavras, quando dois tipos de células são misturados, o tipo celular com maior força adesiva maximiza sua área de contato com células semelhantes, formando um agregado central, circundado por células com adesão mais fraca (Figuras 5, 6). Então essa teoria mostra que as células do granuloma não se selecionam aleatoriamente, mas movem-se ativamente, criando regiões distintas e bem definidas, devido a diferenças entre as moléculas de adesão. Por exemplo, células dispersas e desordenadas ao redor de ovos caracterizam a fase pré-granulomatosa. Algumas células (macrófagos) passam a migrar centripetamente para a proximidade do ovo central, enquanto outras células (eosinófilos, fibroblastos) posicionam-se em regiões mais externas. Esse comportamento celular está de acordo com a proposição de Steinberg (1963) sobre o modelo termodinâmico de interação celular. Ele propõe que células misturadas interagem para formar um agregado com a menor energia livre interfacial. Isto é, as células procuram se organizar entre si, com o objetivo de obter um padrão termodinamicamente mais estável. A configuração de populações celulares conectadas com a menor energia livre interfacial (= configuração na qual o número de ligações célula-célula está maximizado) é a esfera dentro da esfera, onde as células com menor número de sítios de ligação ficam externamente segregadas, envolvendo aquelas com um número maior de ligações. Então, o granuloma consiste de uma comunidade segregante de células mutuamente adesivas, onde as menos coesivas tendem a envelopar, parcial ou completamente, a população mais coesiva e em equilíbrio termodinâmico (Figuras 4, 5, 6). Nesse aspecto, o granuloma reproduz, *in vivo*, as observações, *in vitro*, de Townes & Holtfreter (1955) com células da placa neural, mesoderma axial e epiderme de anfíbios, que passaram, quando misturadas, a montar uma estrutura esférica, constituída por camadas concêntricas bem definidas.

Rotulagem (*Tagging*)

O mecanismo da rotulagem está diretamente relacionado à formação de agregados, como anteriormente exposto. As moléculas de adesão e seus contra-receptores (homotípicos ou heterotípicos) comportam-se, respectivamente, como etiquetas ou rótulos, que interagem com seus respectivos perceptores do rótulo ou da etiqueta (*tag query*). O mecanismo da rotulagem é a expressão de um comportamento biossemiótico

ou de percepção de sinais, isto é, o granuloma pode também se comportar como uma entidade semiótica. Em sistemas biológicos, é comum que os veículos dos signos sejam coisas físicas, como moléculas ou conjunto de moléculas Um signo é constituído por um conjunto de relações que pode ser representado pelo triângulo semiótico, incluindo os seguintes elementos: o veículo do signo (chamado por Pierce de *representamen*), o significado (para Pierce, 'interpretante') e o referente (para Pierce, o 'objeto') (Emmeche & El-Hani, 2000). No caso do granuloma, o objeto ou referente é a própria célula. O veículo do signo ou *representamen* é o conjunto de moléculas na superfície da célula que possibilita seu reconhecimento como um determinado tipo de célula, e o 'interpretante' corresponde ao significado daqueles sinais moleculares para as células contra-receptoras. As células nos granulomas expressam moléculas de adesão intercelulares (ICAM = *intercellular adhesion molecules*) e moléculas de adesão com substrato (SAM = *substrate adhesion molecules*) pertencentes às famílias das integrinas, superfamília das imunoglobulinas, selectinas, CD 44, caderinas, ocludinas e conexinas (Jacobs & Van Marck, 1998; Jacobs et al., 1997a, 1997b, 1998; Romanha, 1999; Lenzi et al., 2006). A distribuição zonal de várias moléculas de adesão, em granuloma exsudativo-produtivo, segundo trabalho de Romanha (1999), está esquematizada na Figura 11.

Figura 4 – A: Arcabouço colagênico, definindo as três zonas (C = central; M = medial; P = periférica) do granuloma esquistossomático exsudativo-produtivo em fígado de camundongo *Swiss Webster* (Picrosirius). B: Granuloma esquistossomótico hepático exsudativo-produtivo, constituído por três camadas distintas, com a central (C) sendo macrofágica e paucifibrilar; a medial (M), com fibras arranjadas concentricamente; e com a periférica (P) bastante celulosa e com fibras reticulares dispostas em padrão frouxo (reticulina de Gomori). C: Estágios que ocorrem no transcurso da formação do granuloma segundo a Hipótese da Adesão Diferencial de Steinberg (1996), resultando na procura da estabilidade termodinâmica máxima

Figuras 5 e 6 – Intensa expressão de CD44 na zona central de granulomas esquistossomóticos exsudativo-produtivos hepáticos de *Swiss Webster*, definindo um padrão de maior adesão entre as células, na zona central (imunofluorescência direta)

Modelos Internos

Modelo interno se refere, segundo Holland (1995, 1999), ao mecanismo para antecipação. Ele dá o seguinte exemplo: quando dirigimos um carro, regressando do trabalho para casa, temos em nossa cabeça um modelo interno de percurso; se uma das ruas estiver bloqueada, sabemos como tomar um caminho alternativo. A questão é entender como tal modelo é gerado e, uma vez formado, como é utilizado. No caso do granuloma esquistossomótico, cada etapa parece antecipar a próxima: estado pré-granulomatoso, que compreende reativo inicial e exsudativo, é seguido pelo estado granulomatoso, constiuído, seqüencialmente, pelas seguintes fases: exsudativo-produtivo → produtivo recente → produtivo fibrótico → involutivo → desintegração. O que determina esse percurso evolutivo ainda é desconhecido, apesar dos padrões morfológicos estarem bem determinados. Essa idéia de modelo interno lembra um pouco os algoritmos genéticos ou a cadeia de Markov, pois, em sua progressão, segue uma trajetória particular produzida pelo 'sistema granuloma' (Ashby, 1970). Pode-se dizer que o granuloma tem duas fases seqüenciais: uma neguentrópica, de evolução e criação, e outra entrópica, de decadência e dissolução. O granuloma exsudativo-produtivo corresponde à linha divisória entre as duas fases e o fator determinante dessa virada funcional é a morte do miracídio.

Blocos de Construção ou Montagem

Segundo Holland (1995, 1999), a idéia de blocos de construção ou de montagem é a mesma dos blocos usados em brinquedos de crianças ou na montagem digital de faces humanas: o número de blocos é pequeno, mas diferentes combinações dos mesmos podem gerar faces ou objetos variados. Em matemática, é a mesma noção dos geradores de um grupo finito. Em granuloma, pode-se exemplificar esse item mostrando-se a construção progressiva de sua estrutura matricial, utilizando-se apenas os colágenos intersticiais I e III (Figuras 7-10). Na realidade, os blocos de montagem da trama matricial são mais variados, podendo compreender colágenos I, III, IV, fibronectina, laminina, tenascina, vitronectina, proteoglicanos, fibras do sistema elástico e outros (Lenzi et al., 1991; Junqueira et al., 1986; Silva, Mourão & Borojevic, 1989; Silva, 1994; Cotta-Pereira et al., 1991; Joazeiro, 1995). Na sua totalidade, o granuloma é construído por blocos celulares e de componentes da matriz extracelular, que são articulados, de forma particular, para cada estágio do seu desenvolvimento. Esses blocos são continuadamente arranjados (síntese e montagem) e

desestruturados (degradação e reabsorção), como ocorre com a matriz extracelular que, dinamicamente, é produzida e reabsorvida, após sua degradação (Lenzi et al., 1998, 2006; Grimaud, 1987; Andrade, 1992; Andrade & Grimaud, 1986; Cavalcanti, Barbosa Jr. & Andrade, 2002; Santos, Barbosa Jr. & Andrade, 1992). Essas transformações incluem modificações na concentração, composição molecular, micro-heterogeneidades e distribuição das macromoléculas da matriz extracelular (Joazeiro, 1995), havendo continuadamente uma superposição paradoxal entre síntese e degradação (Sommer et al., 1993). Na sua construção, o granuloma desenvolve uma topologia colagênica variável e irregular, originada bidirecionalmente de montagens centrífugas e centrípetas a partir de unidades de crescimento colagênico, definindo um padrão fractal (Lenzi et al., 2006). A automontagem das conexões, a partir dessas unidades colagênicas, define o 'arcabouço tridimensional dos granulomas', que adquire características estruturais semelhantes a tensegridades simétricas estáveis, de multimodularidade (Connelli & Back, 1998; Ingberg, 2003).

Figuras 7-10 – Granulomas esquistossomáticos hepáticos, em *Swiss Webster*, em diferentes tempos de maturidade, mostrando a gradual montagem dos colágenos intersticiais, enredando uma complexa trama colagênica até que esteja definido o padrão próprio do granuloma exsudativo-produtivo, que exibe a zona medial com fibras tendendo à concentricidade (PMA-*Sirius Red*, lido em confocal na modalidade de código de cores por profundidade)

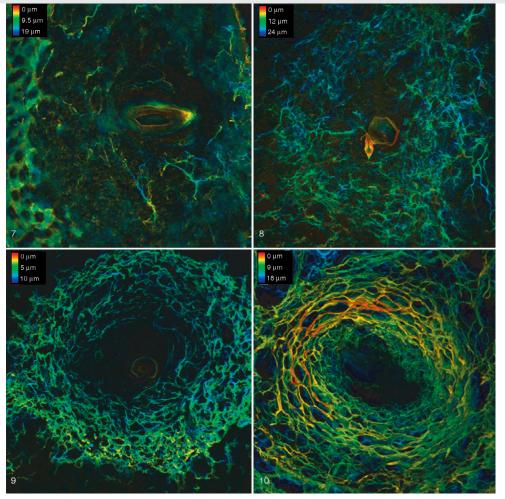
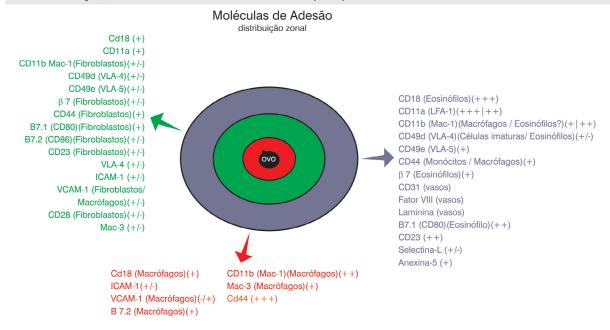
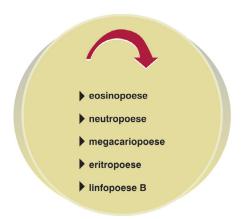



Figura 11 – Distribuição semiquantitativa de várias moléculas de adesão nas três diferentes zonas de granulomas esquistossomótico exsudativo-produtivos hepáticos de camundongos *Swiss Webster*, com 55 dias de infecção, de acordo com estudo de Romanha (1999)

Fluxos

Apesar de o granuloma ser, em geral, uma estrutura avascular, podendo, ocasionalmente, ter vasos na zona periférica (ver subitem Vascularização dos Granulomas Hepáticos), ocorrem fluxos de células e de produtos não celulares solúveis, tanto no sentido centrípeto como centrífugo. Produtos do miracídio (larva que vive no interior do ovo) costumam se difundir, em gradiente, do centro para a periferia (movimento centrífugo). Por outro lado, esses produtos, direta ou indiretamente, podem exercer um efeito quimioatrator, atraindo células da periferia para o interior do granuloma (movimento centrípeto). Além disso, ocorrem fluxos de mensagens entre células aderidas, as quais passam a constituir verdadeiras redes ou circuitos. Segundo Holland (1995, 1999), os fluxos podem derivar em dois efeitos positivos: efeito multiplicador e efeito de reciclagem. O autor exemplificou esses efeitos, utilizando a floresta tropical como exemplo: uma floresta tropical ocupa um solo pobre e, apesar disso, tem enorme riqueza biológica. Como e por quê? Em parte, isso se deve ao efeito multiplicador. De fato, um nutriente do solo é utilizado em forma cooperativa, para evitar que seja lixiviado, isto é, arrastado de volta ao solo pelas chuvas. O nutriente é também reciclado, passando, por exemplo, de uma árvore para uma larva, dela para um pássaro e assim por diante. No caso do granuloma esses dois efeitos não estão bem estudados, conhecendo-se pouco sobre o seu dinamismo celular, bioquímico, fluxo *input* (migração e proliferação local) e *output* (apoptose, necrose) de células durante todo o processo de amadurecimento e involução (Figura 12). O granuloma hepático tem também um importante 'componente autopoético', podendo gerar, internamente, vários tipos de linhagens celulares (eosinopoese, neutropoese, megacariopoese, eritropoese, linfopoese B) (Lenzi & Lenzi, 1990; Lenzi et al., 1995; Rossi et al., 1999). A autopoese intragranulomatosa é evidenciada também pela observação de células em proliferação (Ki-67+), células imaturas (c-Kit+) e receptores para fatores de crescimento (Lenzi et al., 2006) (Figura 13).

Figura 12 – Desenho exemplificando a origem e o destino das células em granulomas esquistossomóticos hepáticos

Figura 13 – Linhagens produzidas dentro de granuloma esquistossomótico hepático, em *Swiss Webster*, por hematopoese intrínseca

Diversidade

Como o granuloma é uma estrutura organizada (Adams, 1983), simulando a organização de um pequeno ser metazoário (Lenzi et al., 1998), sua diversidade não é acidental e nem aleatória. Atualmente, conhece-se apenas a diversidade 'macroscópica' do granuloma, expressa pela heterogeneidade de sua população celular, componentes da matriz extracelular, de moléculas de adesão e fatores de crescimento e seus receptores (Figuras 14, 15). Contudo, novos equipamentos e procedimentos técnicos possibilitarão definir, em cada granuloma isolado, a totalidade de genes expressos (histogenômica), RNAs mensageiros (histotranscriptoma), proteínas (histoproteômica), interações entre proteínas (interactoma) e o conjunto de substratos, metabólitos e outras moléculas (metaboloma). Esses estudos poderão ser feitos em granulomas inteiros ou discriminados por zonas topográficas. A microdissecção por *laser* possibilitará o estudo das três zonas bem configuradas dos granulomas exsudativo-produtivos.

Figura 14 – Composição celular e de componentes da matriz extracelular em granulomas esquistossomótico hepáticos

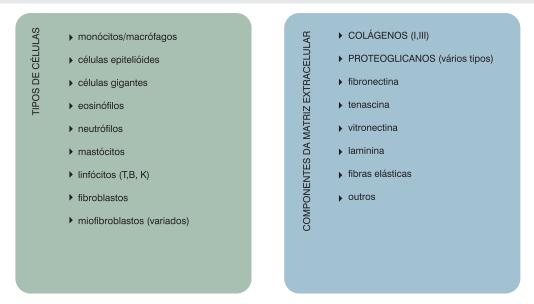



Figura 15 – Tipos de moléculas de adesão, fatores de crescimento e seus receptores e fatores de transcrição em granulomas esquistossomótico

Não-linearidade

O granuloma, tanto em seu processo de formação, quanto em sua tessitura interna, resulta de processos não lineares. Portanto se caracteriza como uma totalidade complexa e não complicada, onde a decomposição das partes desconstrói o todo, de tal sorte que é impraticável, a partir das partes, se refazer o mesmo todo (Demo, 2002). Por essa razão, os modelos de granuloma *in vitro* são artificiais e não reproduzem a complexidade do 'granuloma *in vivo*' (Phillips et al., 1980; Doughty & Phillips, 1982; Doughty et al.,

1987). Em sistemas não lineares importa a idéia de emergência. Esta é, segundo Morin (1977), inseparável da morfogênese sistêmica, isto é, da criação de uma forma nova que constitui o todo: a unidade complexa organizada. Trata-se realmente de morfogênese, visto que o sistema constitui uma realidade topológica, estrutural e qualitativamente nova no espaço e no tempo. A organização transforma uma diversidade descontínua de elementos numa forma global. As emergências são as propriedades, globais e particulares, saídas dessa formação, inseparável da transformação dos elementos (Morin, 1977). As aquisições e as perdas qualitativas indicam que os elementos que participam de um sistema (no caso o granuloma) são transformados em 'partes de um todo'. Com isso, segundo Morin (1977), desemboca-se num princípio sistêmico-chave: a ligação entre formação e transformação, constituindo um circuito ininterrupto na organização de seres e/ou estruturas vivas. Uma característica importante da não-linearidade, segundo Holland (1995), é a 'taxa de reação (aderência)' que ocorre no choque ou encontro entre os componentes do sistema, como por exemplo, entre linfócitos-macrófagos, linfócitos-linfócitos, linfócitos-eosinófilos, fibroblastos-mastócitos etc., ou entre agregados celulares (taxa de reação do agregado). As interações não lineares impedem de se atribuir uma taxa de reação agregada à reação agregada (Holland, 1995). A diversidade e não-linearidade dos sistemas biológicos provocam o fenômeno da subdeterminação (*undetermination*) das teorias pelos fatos. Segundo Henry Atlan, a subdeterminação decorre do fato de "um grande número de conexões diferentes produzir o ou os mesmos atratores. Ou seja, um grande número de teorias diferentes prediz os mesmos fatos observáveis" ou, em outros termos, "o mesmo efeito pode ser gerado por milhares de diferentes estados complexos" (Atlan, 1991; Lenzi, Romanha & Pelajo Machado, 2004).

Modulação do Granuloma Hepático

Warren (1963) e Andrade & Warren (1964) observaram, em camundongos, que, assim que a infecção por *S. mansoni* ficava crônica, ocorria diminuição da reação inflamatória periovular. Cheever (1965a) referiu achados histopatológicos semelhantes, e Domingo & Warren (1968a) confirmaram que a modulação do tamanho do granuloma era dependente de uma 'dessensibilização endógena' do hospedeiro e não de fatores dependentes do parasito. Em seguida vários estudos observaram que a diminuição do tamanho dos granulomas no transcurso da infecção coincidia, paralelamente, com o declínio de outros parâmetros da resposta imunológica mediada por células (Smithers & Doenhoff, 1976). Assim, a resposta blastogênica, induzida por antígenos ovulares *in vitro*, atingiu, em camundongos, o máximo de reatividade sete a nove semanas após a infecção, declinando após esse período (Colley, 1971). A resposta de hipersensibilidade retardada (intumescimento da pata), em camundongos injetados com antígeno ovular, declinou em torno de 12 semanas após a ocorrência de um pico, entre oito e dez semanas (Boros, Pelley & Warren, 1975). É importante destacar que estudos em camundongos infectados revelaram resultados diferentes daqueles obtidos com injeção intravenosa de ovos (modelo pulmonar) (Cheever et al., 2002). Neste sentido, nem timectomia (Domingo & Warren, 1967), nem aplicação de soro heterólogo antilinfocitário (Domingo & Warren, 1968b) tiveram qualquer efeito nos sintomas da doença hepatoesplênica. Nos animais timectomizados, três dias após o nascimento, por exemplo, ocorreu uma diminuição significativa no diâmetro dos granulomas pulmonares no 16º dia após a injeção de ovos (controles simulados – *sham*: 192±4; timectomizados: 92±1), enquanto os granulomas hepáticos, oito semanas após a exposição a 15 cercárias de *S. mansoni,* não exibiram alterações significativas (controles: 360±2; timectomizados: 373±10) (Domingo & Warren, 1967). Ovos injetados pela veia da cauda são mortos muito mais rapidamente do que ovos injetados na veia

porta (Feldman, Dannenberg & Seed, 1990) e todos os resquícios dos ovos são também mais rapidadmente removidos dos pulmões (Cheever & Anderson, 1971; Almeida & Andrade, 1983). Isso vem reforçar os aspectos discutidos no subitem Influência do Ambiente ou do Órgão na Modulação do Granuloma. Infelizmente, a maioria dos trabalhos sobre modulação dos granulomas não discrimina esses aspectos topográficos e os dados são tão heterogêneos, variáveis e até contraditórios de modelo para modelo que dificultam uma análise integral. Além disso, os estudos histopatológicos são bastante incompletos e imprecisos, não havendo clareza sobre os diferentes tipos evolutivos dos granulomas, pois quando se comparam grupos é sumamente importante utilizar granulomas centrados por ovos viáveis de mesma fase evolutiva (Lenzi et al., 1998). Para tal sugere-se que sejam analisados granulomas exsudativo-produtivos, mais bem definidos por colorações especiais como Picrosirius contracorado com hematoxilina (Junqueira, Bignolas & Brentani, 1979), ou PAS ou reticulina ou tricromática de Masson. Hematoxilina-eosina não é uma coloração confiável para esse tipo de estudo. Tentaremos expor os vários mecanismos apresentados pela literatura, os quais podem ser revistos em dois artigos de revisão (Cheever et al., 2002; Stavitsky, 2004).

Diferenças entre Fases Aguda e Crônica

A regulação do granuloma parece seguir mecanismos diferentes, conforme a fase da infecção. Assim, a regulação negativa do tamanho dos granulomas em infecções agudas (oito semanas) difere da regulação da fase crônica. Isto é, em infecção aguda, o tamanho do granuloma parece ser controlado principalmente por linfócitos T e seu volume diminui na presença de IL-10 (Flores-Villanueva et al., 1996), aumentando, contrariamente, na ausência desta interleucina (Wynn et al., 1998), bem como aumenta na administração de ciclofosfamida ou cimetidina (antagonista de receptor H_2 de histamina) (Weinstock & Boros, 1981; Weinstock, Chensue & Boros, 1983). Uma grande proporção de macrófagos, linfócitos, eosinófilos, neutrófilos dos granulomas, e linfócitos esplênicos expressam receptores de histamina. Em células dos granulomas predominam receptores do tipo H_1, com alguns linfócitos expressando receptores do tipo H_2 (Weinstock, Chensue & Boros, 1983). Parece que linfócitos que regulam, no interior dos granulomas, a produção de linfocinas (linfócitos supressores) pode desencadear a atividade supressora via receptores de histamina, a qual seria produzida por mastócitos (Weinstock, Chensue & Boros, 1983). Os mastócitos dentro dos granulomas hepáticos e intestinais apresentam comportamento cíclico, surgindo aos quarenta dias de infecção nos primeiros e aos cinqüenta, nos segundos (Lenzi, Sobral & Lenzi, 1987), sendo também numerosos aos oitenta dias de infecção, aparecendo em granulomas de infecções de até 160 dias (Lenzi et al., 1998). A ciclofosfamida também aumenta o tamanho do granuloma em infecções crônicas e postula-se que o efeito sobre células T supera os efeitos das imunoglobulinas (Colley, Lewis & Todd, 1979; Weinstock, Chensue & Boros, 1983). Os anticorpos exercem um efeito significante, mas modesto nas infecções agudas (Jankovic et al., 1998).

Células T e Células Dendríticas

A regulação negativa (*downregulation*) do tamanho de granulomas tem sido considerada como um efeito de células supressoras CD8+ (Chensue & Boros, 1979; Green & Colley, 1981), mediada, ao menos em parte, por interferon-γ (IFN-γ). Todavia, regulação negativa foi encontrada, em camundongos nocauteados, para IFN-γ, β-2 microglobulina (também virtualmente incapaz de gerar células CD8+), TAP1 (incapazes de processar antígeno no contexto de MHC classe I) (Hernandez, Wang & Stadecker, 1997;

Yap et al., 1997). Desconhece-se como esses achados podem ser conciliados com os estudos implicando células CD8+ na regulação negativa do granuloma (Cheever et al., 2002). As células CD8+ não são também críticas para a formação dos granulomas, ao menos no período inicial de infecção natural (Hernandez, Wang & Stadecker, 1997; Yap et al., 1997).

A função de células dendríticas CD8+ na esquistossomose não está ainda esclarecida. Lisofosfatidil-serina de esquistossoma ativou receptores tipo Toll-2 (TLR-2) e induziu células dentríticas a promover o desenvolvimento de linfócitos T reguladores, produtores de IL-10 (Van der Kleij et al., 2002). Todavia, ainda não se sabe se as células reguladoras, na esquistossomose, inibem a resposta imunológica, incluindo as respostas proliferativas, a produção de citocinas e a formação de granulomas (Stavitsky, 2004). Células Tr (T reguladoras) e outras células reguladoras podem reduzir a formação de granulomas, inibindo a proliferação celular estimulada por SEA e a produção de citocina por células esplênicas ou por células de granulomas hepáticos em camundongos agudamente infectados (Stavitsky, 2004).

Células B

Experimentos com nocaute gênico mostraram que células B e FCγR, e não células T CD8+, são requeridas para a modulação negativa de granulomas hepáticos (Stavitsky, 2004). De fato, camundongos infectados e tornados deficientes em células B por tratamento com soro anti-μ (Cheever et al., 1985) ou por manipulação genética (camundongo com nocaute de μMT = disrupção do éxon responsável pelo gene da cadeia m de imunoglobulina de membrana) (Jankovic et al., 1998; Ferru et al., 1998) não modularam o tamanho dos granulomas ou a fibrose hepática e mostraram aumento no tamanho dos granulomas e na fibrose tanto em infecção aguda (oito semanas), como em crônica. Os animais nocauteados para μMT e os controles 'selvagens' não mostraram diferenças na recuperação de vermes adultos e de ovos nos tecidos, indicando que nem as células B e nem os anticorpos influenciam o desenvolvimento de *S. mansoni* em infecções primárias (Jankovic et al., 1998). Todavia, os animais nocauteados mostraram uma significativa diminuição na excreção de ovos pelas fezes (Jankovic et al., 1998). A resposta proliferativa de células T a SEA (*soluble egg antigens*), todavia, era regulada negativamente em camundongos com nocaute de μMT cronicamente infectados, apesar de apresentarem aumento no tamanho dos granulomas e na fibrose. A exacerbação da reação periovular nos animais nocauteados para μMT não pareceu resultar de uma produção aberrante de citocinas dependentes de TH2 (IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 e nem de alteração na regulação negativa de respostas T) (Jankovic et al., 1998). Camundongos deficientes em FCRγ exibiram defeitos na regulação da reação periovular semelhantes aos observados nos animais deficientes em células B (Jankovic et al., 1998). Esses animais possuem um compartimento normal de células B, mas, devido à deleção no gene codificante da cadeia comum de FcRγ, falham em expressar FCγRI, FCγRIII e FcεγRI, que constituem os principais receptores de superfície celular envolvidos no desencadeamento de reações mediadas por Fc (Takai et al., 1994). Porém, em contraste com os animais nocauteados para μMT, os animais nocauteados para FCRγ não exibiram diminuição significativa na excreção de ovos pelas fezes, na oitava semana após a infecção, e nem apresentaram uma maior mortalidade, como ocorreu com os primeiros. Essas observações sugerem que a diminuição da excreção de ovos nas fezes e o aumento na mortalidade observados nos animais μMT negativos decorreram diretamente da ausência de células B ou de seus produtos, por intermédio de mecanismos independentes de eventos desencadeados por sinalização via FcR (Jankovic et al., 1998). Outro estudo, empregando camundongos com mutações direcionadas no lócus J(H) (o fenótipo desses animais

sem JHD resulta em ausência de células B e de produção de anticorpos), mostrou que as células B são requeridas, em linfonodos mesentéricos, como células acessórias, para respostas de citocinas do padrão Th2, mas não para a formação dos granulomas hepáticos. Isto é, os animais JHD, capazes de produzir IFN-γ e IL-12 e com níveis dramaticamente reduzidos ou não detectáveis de IL-4 e IL-10, não mostraram diferenças significativas, em relação aos controles, quanto ao tamanho e composição dos granulomas ou no número de ovos depositados no fígado (Hernandez, Wang & Stadecker, 1997).

Respostas Th1-Th2 e Fatores de Transcrição

A reação granulomatosa periovular na esquistossomose mansoni é considerada, tradicionalmente, uma reação de hipercelularidade celular tardia (DTH = *delayed type hipersensitivity*) (Warren, Domingo & Cowan, 1967). Camundongos atímicos (camundongos nus – apresentam uma mutação gênica, não possuem pêlos e apresentam agenesia do timo; não possuem linfócitos T formados no timo) (Mota, Alvarez & Fernandes, 1999) formam granulomas periovulares pequenos e desenvolvem pouca fibrose hepática (Phillips et al., 1977; Cheever et al., 1993). Evidências indicam que a reação periovular é predominantemente do tipo Th2 (Cheever et al., 2002; Kaplan et al., 1998; Wynn & Cheever, 1995; Pearce et al., 1991; Wynn et al., 1993), caracterizando uma DTH do tipo Th2, embora possa iniciar como uma resposta tipo Th0/Th1 (Henderson et al., 1992; Cook et al., 1993; Zhu, Lukacs & Boros, 1994; Chikunguwo et al., 1991) e mudar, no transcurso da fase crônica da infecção, de Th2 para Th1 (Borojevic, 1992). O desvio de Th2 para Th1 no transcurso da fase crônica da infecção não foi observado por Henderson et al. (1992) ao estudarem a expressão de RNAm de IL-4, IL-2 e IFN-γ. Rakasz et al. (1998) observaram que os granulomas esquistossomóticos murinos são fortemente do tipo Th2, produzindo grandes quantidades de IL-4 e de IL-5 e pouco IFN-γ. Este seria produzido por linfócitos T (CD 8^{+}) e não por células NK. Segundo aqueles autores, a produção de IFN-γ por células T, em granulomas, está sujeita à regulação por IL-10 e TGF-β, fato particularmente evidente em camundongos IL-4-/-. Concluíram, então, que os granulomas Th2 da esquistossomose têm um grande número de linfócitos Th1 e Th0 que estão sob rigorosa restrição funcional. A regulação cruzada entre Th2 e Th1, nos granulomas, não é universalmente admitida. A falência da resposta granulomatosa em mudar para Th1 em animais privados de IL-4 sugere que a reação cruzada entre os dois tipos de respostas não ocorre (Metwali et al., 1996; Rakasz et al., 1998). Outros estudos, porém, mostram que as respostas Th1 e Th2 são interdependentes: a resposta de IL-4 influencia a resposta de IL-2 (Yamashita & Boros, 1992), e IL-2 contribui para a resposta de IL-5 (Metwali et al., 1993b). Há também evidências de que citocinas de Th1 (IL-2, IFN-γ), receptor de IFN-γ, e citocinas Th2 (IL-4, IL-5) estão envolvidas na composição celular dos granulomas hepáticos (Stavitsky, 2004). A produção intragranulomatosa de IL-4, IL-5 e IFN-γ, induzidas por antígenos ovulares endógenos, correlaciona-se fortemente com a indução da inflamação granulomatosa e o seu declínio, por sua vez, coincide com a modulação negativa da resposta granulomatosa (King, Xianli & Stavitsky, 2001). Além disso, as células que secretam IL-4, IL-5 e IFN-γ estão reguladas de forma coordenada, sugerindo que as células secretoras dos granulomas utilizam fatores de transcrição NFAT (*nuclear factor of activated T cells*), que regulam a expressão específica de genes Th1 e Th2 (Rooney et al., 1994; Rao, Luo & Hogan, 1997; King, Xianli & Stavitsky, 2001). Essas observações contradizem a idéia de que IFN-γ exerce funções de regulação cruzada e antiinflamatória na modulação negativa dos granulomas. Ao contrário, os resultados fortalecem estudos prévios que implicam as IL-4 e IFN-γ na formação dos granulomas (King, Xianli & Stavitsky, 2001).

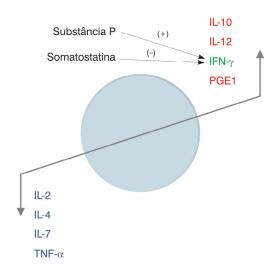
Sinais por intermédio de receptores T (TCR) e de receptores de citocinas desencadeiam a expressão de citocinas Th1 via STAT4 e indução de fator de trancrição T-bet. Sinais que ativam STAT6 induzem fator de transcrição Gata3, levando à expressão de citocinas Th2 (Rengarajan, Szabo & Glimcher, 2000). Granulomas hepáticos em camundongos deficientes em STAT-6 (=Th2-) eram compostos principalmente de células mononucleares, com esparsos eosinófilos, e a diminuição em seu tamanho estava acompanhada por decréscimo no conteúdo de hidroxiprolina hepática, denotando queda na deposição de colágeno. Por outro lado, linfócitos de camundongos infectados e deficientes em STAT4 (Th1-) produziram quantidades de citocinas do tipo Th2 comparáveis aos controles, porém a produção de IFN-γ era baixa. Esses animais desenvolveram granulomas pulmonares modestamente diminuídos em tamanho após injeção de ovos, enquanto o tamanho dos granulomas hepáticos e a quantidade de depósito de colágeno em fígado eram semelhantes aos observados nos animais-controle. Tais estudos demonstraram que células Th2 são necessárias para o completo desenvolvimento dos granulomas e da fibrose hepática associados com a resposta aos ovos de *S. mansoni* (Kaplan et al., 1998).

Citocinas

Tratamento de camundongos com citocinas e anticorpos anticitocinas específicos geralmente destacam a importância de reações tipo Th2 para a formação e manutenção de granulomas mais volumosos (Cheever et al., 1998). Anticorpos neutralizadores de IL-2 (inibindo assim a expansão de linfócitos CD4+) ou de IL-4 (bloqueando a diferenciação e expansão de Th2) diminuem o tamanho dos granulomas e da fibrose hepática (Cheever et al., 1992, 1994b). A imunização de camundongos com IL-12, provocando um aumento da resposta Th1 e diminuição da Th2, diminuiu o tamanho dos granulomas e da fibrose em camundongos infectados posteriormente a esse procedimento (Wynn et al., 1995). Porém foram observadas duas exceções no fenômeno de diminuição das alterações imunopatológicas com aumento da resposta Th1. Camundongos nocauteados para IL-10 mostraram aumento de IFN-γ, com acentuado aumento no tamanho dos granulomas (Wynn et al., 1998). Camundongos nocauteados para IL-4, em contexto de Balb/c, também exibiram altos níveis de IFN-γ e granulomas muito aumentados (Jankovic et al., não publicado). Em ambas as situações, a fibrose hepática total, surpreendentemente, não foi afetada. De fato, animais nocauteados para IL-4 e infectados por *S. mansoni* desencadeiam uma diversidade de reações confusas (Cheever et al., 2002). Fibroblastos murinos também expressam receptores para IL-4 (IL-4R) e sintetizam colágeno após estimulação por essa citocina (Sempowski et al., 1994). Enquanto essa função de IL-4 não foi demonstrada ser dependente de STAT6, é possível que a deposição alterada de colágeno observada em camundongos deficientes de STAT6 e infectados resulte tanto da deficiência de células T produtoras de IL-4, como também da inabilidade de fibroblastos responderem a IL-4 (Kaplan et al., 1998). Além disso, é possível que STAT6 tenha também outras funções fora do sistema imunitário. STAT6 é largamente expresso e pode transmitir sinais para outras citocinas, como o fator ativador de plaquetas (PDGF = *platelet-derived growth factor*) (Patel et al., 1996), que também pode ser um fator importante na fibrose ou no recrutamento celular para o granuloma (Kaplan et al., 1998).

A introdução, durante a infecção, de algumas citocinas recombinantes, incluindo recombinante IL-2 (Matheu, Ragheb & Boros, 1990), recombinante IL-7 (Wolowczuk et al., 1997) e recombinante TNF-α (Amiri et al., 1992; Joseph & Boros, 1993), aumentou o tamanho dos granulomas hepáticos. TNF-α recombinante ocasionalmente não restaurou a formação de granuloma hepático em camundongos SCID

(Cheever, Poindexter & Wynn, 1999), sugerindo que essa citocina é marginalmente requerida na formação do granuloma. Na Figura 16 é demonstrada, esquematicamente, a ação das principais citocinas e neuropeptídeos na modulação dos granulomas hepáticos.

Figura 16 – Esquema mostrando a participação de algumas citocinas e de neuropeptídeos na modulação para mais (*up-modulation*) ou para menos (*down-modulation*) do granuloma esquistossomótico

Eosinófilos, IL-5 e IL-13

Durante muito tempo os eosinófilos foram tidos como células matadoras de helmintos, incluindo os miracídios da fase ovular, em granulomas esquistossomóticos (Butterworth et al., 1979; Olds & Mahmaoud, 1980). Porém, trabalhos mais recentes estão gradativamente desconstruindo essa concepção equivocada e confirmando trabalhos realizados por pesquisadores brasileiros ou de outros países, que mostram outras funções para os eosinófilos na infecção esquistossomótica ou por outros helmintos (Reis, 1984; Reis & Andrade, 1987; Lenzi, Lenzi & Sobral, 1987; Lenzi et al., 1997; Lee & Lee, 2005). Camundongos 'selvagens' e nocauteados para IL-5, expostos à infecção percutânea com cercárias de *S. mansoni* e sacrificados nove (aguda) e 16 (crônica) semanas após a infecção, não mostraram diferenças na carga de parasitos (vermes adultos) e de ovos nos tecidos, indicando que a IL-5 não atua no estabelecimento da infecção em camundongos, apesar da ablação quase que total da reação eosinofílica em fígado e pulmão (Brunet et al., 1999; Sher et al., 1990; Reiman et al., 2006). Porém, o tamanho médio dos granulomas hepáticos nos animais nocauteados para IL-5 foi significativamente reduzido, tanto na fase aguda, como na crônica, quando comparado com os animais-controle, refletindo provavelmente a ausência de eosinófilos. Contudo, como ambos os grupos de animais (nocauteados e selvagens) desenvolveram granulomas menores na fase crônica do que na aguda, IL-5 e eosinófilos não parecem participar nos mecanismos reguladores da modulação negativa (*downmodulation*) (Reiman et al., 2006). Quando a composição celular dos granulomas hepáticos foi examinada em detalhe, na nona semana de infecção, a percentagem de macrófagos (44%) e de fibroblastos (27%) quase que dobrou nos animais nocauteados, presumidamente devido à

quase ausência de eosinófilos (1%), contrastando com os granulomas dos animais-controle, onde eram de 20% (macrófagos), 15% (fibroblastos) e 51% (eosinófilos). A fibrose hepática, avaliada por ensaio para hidroxiprolina, estava também significativamente reduzida nos camundongos nocauteados, em ambos os pontos de infecção, demonstrando que a IL-5 exerce um papel relevante na patogênese da esquistossomose (Reiman et al., 2006). A expressão de RNAm de IL-13 também aumentou no tecido granulomatoso de ambos os grupos de animais, sugerindo a ocorrência não significativa de alteração da resposta Th2 na ausência de IL-5. Todavia, aumento expressivo de IFN-γ e de seu RNAm nos animais nocauteados indicou o desenvolvimento de uma resposta de citocina do tipo misto Th1/Th2, e incapacidade de polarizar a reação do tipo Th2. Isso sugeriu que IL-5/eosinófilos parecem ser importantes para a polarização e estabilização das respostas do tipo dois (Th2) em infecções helmínticas (Reiman et al., 2006). Esses autores também observaram, avaliando a expressão de RNAm, que os eosinófilos são uma fonte dominante de citocinas do tipo 2 (IL-4, IL-5, e IL-13). Os eosinófilos, ao aumentar a relação da razão de IL-13 *versus* IFN-γ, favoreceram o aumento do número de macrófagos e fibroblastos ativados, que são importantes na remodelação e fibrose tecidual.

Entre as várias funções dos eosinófilos (Lenzi et al., 1997; Rothenberg & Hogan, 2006; Lee & Lee, 2005; Jacobsen, 2007), cada vez mais é destacada a participação na remodelação tecidual e na limpeza de detritos (*debris scavenging*) por intermédio de peroxidase eosinofílica (Horton et al., 1996), ribonuclease da subfamília de RNAse A (ECP = *eosinophil cationic protein*, EDN = *eosinophil-derived neurotoxin* e outras) (Rosenberg, 1998), metaloproteinases de matriz extracelular (Schwingshacki et al., 1999) e inibidor-2 do ativador de plasminogênio (PAI-2 = *plasminogen activator inhibitor*) (inibidor de protease) (Swartz et al., 2004). As proteínas básicas principais dos eosinófilos (MBPs = *Major Basic Proteins*), assim como outras proteínas catiônicas (histonas, proteínas da vesícula seminal) exercem funções catabólicas baseadas em sua abilidade bioquímica inusual de ligar-se a quase qualquer coisa encontrada. Nesse sentido, as MBPs participam na limpeza de 'lixo celular' advindo de dano ou morte celular, atuando também nas respostas de remodelação tecidual e inclusive estimulam angiogênese por possuírem heparanase (Lee & Lee, 2005; Temkin et al. 2004). Os eosinófilos são também potenciais participantes na imunorregulação, por meio da produção de várias citocinas (principalmente IL-4 e IL-13), interação com linfócitos T, inclusive através de contatos célula-célula ou por quinureninas (*kynurenines*) catalisadas a partir de triptofano, pela ação de indoleamina 2,3-dioxigenase (Odemuyiwa et al., 2004). Triptofano é essencial para o crescimento celular. Assim, a depleção desse aminoácido inibe a proliferação celular e pode contribuir para o desenvolvimento de linfócitos T não responsivos (Mellor & Munn, 1999) e para a limitação da hematopoiese (Schroecksnadel, Wirleitner & Fuchs, 2003). Os eosinófilos podem também apresentar antígenos para células T previamente expostas a antígenos, mas essa função é bem inferior àquela exercida por células dendríticas (Van Rijt et al., 2003). Em infecção helmíntica com *Strongyloides stercoralis*, Padigel et al. (2006) demonstraram que eosinófilos podem funcionar como células apresentadoras de antígenos na indução de respostas imunológicas primárias e secundárias.

Há a possibilidade de os eosinófilos não serem a causa de estresse ou morte celular e de dano tecidual, em áreas em que comparecem nos processos inflamatórios, como tradicionalmente são vistos, mas sejam os primeiros respondedores a sinais liberados por células em estresse ou que estejam morrendo (Stenfeldt & Wenneras, 2004; Lee & Lee, 2005). Podem também contribuir para o isolamento de patógenos ou de seus produtos e esse efeito parece evidente no fenômeno de fechamento (*closure*) do granuloma, ao

isolar os ovos no centro de granulomas esquistossomóticos, formando uma barreira constituída por proteínas degranuladas e/ou eosinófilos mortos (Kephart, Andrade & Gleish, 1988; Lee & Lee, 2005; Lenzi et al., 2006). Os eosinófilos, nos processos de imunorregulação, interagem, além dos linfócitos T, com vários outros tipos de células, tais como células dendríticas, mastócitos, basófilos, macrófagos, neutrófilos, células epiteliais, endotélio, células musculares lisas, fibroblastos e neurônios (Jacobsen et al., 2007).

Mais recentemente, Swartz et al. (2006), empregando dois modelos de camundongos com 'completa ablação de eosinófilos', mas com persistência de IL-5, observaram que os eosinófilos não tiveram impacto na carga parasitária, na deposição de ovos em tecido, na formação dos granulomas hepáticos (exceto pela ausência de eosinófilos), nas enzimas hepáticas (alanina-aminotransferase e aspartato-aminotransferase) e na fibrose tecidual (colágenos I, III, VI) em oito e 12 semanas após a infecção com *S. mansoni*. Apenas em um dos tipos de camundongos desprovidos de eosinófilos (camundongos ΔdblGata) os autores observaram, em granulomas hepáticos, um aumento discreto de mastócitos, na 12ª semana de infecção.

Apoptose e Granuloma

Como antes destacado, no subitem Granuloma como Exemplo de Sistema Biológico Complexo e Possível Alvo de Modelagem Matemática, os granulomas esquistossomóticos têm uma fase neguentrópica de crescimento e uma fase entrópica de involução até o seu desaparecimento final. Apoptose, provavelmente, é um fator importante que ocorre nas duas fases do ciclo de vida do granuloma, seja na fase aguda ou na fase crônica da infecção (Lundy, Lerman & Boros, 2001). As principais células constituintes dos granulomas, monócitos/macrófagos, têm sua sobrevida fortemente influenciada por citocinas de linfócitos Th1 e Th2, interferindo na diferenciação de monócitos para macrófagos ou atuando diretamente na indução de apoptose (Estaquier & Ameisen, 1997). De modo geral, a resposta Th2, que exibe a secreção combinada de IL-10 e de IL-4, resultou, em cultura de monócitos humanos, num aumento da morte dos monócitos por apoptose. Em oposição, a resposta TH1, com secreção combinada de IL-12, IL-2 e IFN-γ , favoreceu a sobrevida de monócitos mediante combinação de vários mecanismos: aumento da sobrevida dos monócitos por IL-12; efeito redutor modesto da IL-2 na indução espontânea de apoptose, induzido por IFN-γ ou por IL-10 secretada por linfócitos B (Estaquier & Ameisen, 1997). Segundo Rumbley et al. (2001), os granulomas periovulares, além de protegerem os tecidos do hospedeiro através do seqüestro de hepatotoxinas secretadas pelos ovos (Phillips & Colley, 1978; Von Lichtenberg, 1964), podem, contrariamente, lesionar os tecidos devido a uma resposta inflamatória mediada por células T (Lukacs et al., 1994) e, como terceiro mecanismo, importam, ativam e, finalmente, destroem células reativas aos antígenos, durante o curso da infecção esquistossomótica. Assim, segundo Rumbley et al. (1998, 2001), a regulação 'específica do granuloma' pode proteger o hospedeiro de conseqüências patológicas sistêmicas, como a fibrose, atuando como uma organela (pequeno órgão) imunorreguladora e antipatológica, que age atuando e destruindo células reativas a antígenos de *S. mansoni* durante a infecção. Linfócitos, diferente de eosinófilos, sofrem apoptose no baço e no granuloma de camundongos infectados com *S. mansoni*. Os linfócitos de granulomas são mais susceptíveis à apoptose mediada por Fas-Fas ligante do que os linfócitos esplênicos, ao contrário dos eosinófilos. Estes, tanto no baço, como em granulomas, não sofrem apoptose *in vivo* devido à ausência da expressão de Fas-ligante e não a sinais antiapoptóticos fornecidos por Bcl-2 ou Bcl-xL. Apesar de os eosinófilos expressarem uma quantidade relativamente constante de Fas (CD95, Apo1), assim como os linfócitos esplênicos e dos granulomas, não expressam, contudo, quantidades detectáveis de RNA FasL

(Rumbley et al., 2001). A maior percentagem de células apoptóticas, em granulomas esquistossomóticos murinos, foi observada na 11ª semana após a infecção, correspondendo ao pico máximo da formação do granuloma (Rumbley et al., 2001). A apoptose de células CD4+ começou após a deposição de ovos (cinco semanas), apareceu na fase inicial e florida dos granulomas (seis a dez semanas) e persistiu durante todo o estágio crônico imunomodulado (16 semanas) da infecção. Não foi possível ainda estabelecer uma correlação entre a quantidade de SEA e de apoptose intragranulomatosa (Lundy, Lerman & Boros, 2001). O granuloma não parece ser um sítio favorável à proliferação de linfócitos, diferente do baço, pois os mesmos ficam na fase S, mas sem atingir a fase G2/M. Então, os linfócitos em fase S abandonam o granuloma para completar sua divisão em outro local ou ingressam em apoptose, após entrarem em ativação (expressam altos níveis de CD69, com baixa produção de IL-2), induzida por antígeno (morte celular induzida por ativação = *activation-induced cell death* – Aicd) (Lundy, Lerman & Boros, 2001; Rumbley et al., 1998). Ao contrário do que ocorre no baço em relação à apoptose de células CD4+, células B parecem ter um papel não expressivo na mediação da apoptose dessas células em granulomas, compreendendo menos que 4% do total das células do granuloma) (Lundy, Lerman & Boros, 2001). A apoptose de células CD4+ em baço, em infecção esquistossomótica murina, parece decorrer da expressão de FasL por células B-1a (CD19+/CD5+) perante estimulação antigênica na presença de IL-4 e IL-10, indicando uma nova função para essas células na regulação imune durante a infecção (Lundy & Boros, 2002). A apoptose de células CD4+, dependendo do modelo animal, como, por exemplo, camundongos C57BL/6 que desenvolvem granulomas pequenos, pode decorrer de privação de fatores de crescimento e não por morte celular induzida por ativação (Aicd). Carneiro-Santos et al. (2000) demonstraram maior nível de apoptose de células T em pacientes com esquistossomose intestinal leve do que em aqueles com a forma hepatoesplênica da doença, sugerindo que a apoptose T pode ser um mecanismo regulador da atividade da doença, reforçando os achados experimentais em camundongos (Rutizky, Mirkin & Stadecker, 2003; Stadecker et al., 2004). De fato, camundongos geneticamente propensos a desenvolver patologia granulomatosa mais grave apresentam níveis mais altos de células CD4+ em linfonodos e em granulomas, enquanto camundongos que exibem patologia mais discreta apresentam aumento de apoptose de células CD4+, que contribui para limitar as alterações patológicas (Stadecker et al., 2004). Todos esses estudos não analisaram adequadamente a resposta apoptótica *in situ* e não estabeleceram o significado da apoptose na regulação do granuloma (Stavitsky, 2004).

Participação Intragranulomatosa de Neuropeptídeos

Neuropeptídeos, como a substância P (SP) e a somatostatina (SOM), são pequenos polipeptídeos encontrados em alguns nervos intestinais, células endócrinas e leucócitos do trato intestinal (Weinstock et al., 1999). A SP é uma proteína com 11 aminoácidos, que pertence a uma classe de moléculas chamadas de taquicinina e é derivada de uma molécula precursora denominada preprotaquicinina. A SP estimula a célula-alvo por intermédio de um receptor de alta afinidade, denominado neurokinina 1 (NK1) (Sandor, Weinstock & Wynn, 2003). Este neuropeptídeo é um potente vasodilatador, que regula o fluxo de sangue intestinal e que atua também no peristaltismo intestinal, enquanto a SOM exerce profunda ação inibitória no trato gastrointestinal, podendo causar redução na hipertensão porta e no sangramento de varizes esofágicas, em pacientes com cirrose (Chatterjee & Van Mark, 2004). A somatostatina é um hormônio peptídeo de 14 aminoácidos originalmente isolado do hipotálamo. Essa neurocina foi encontrada mais

recentemente no sistema nervoso central (SNC), estômago, trato gastrointestinal e pâncreas. Em 1980, a caracterização do gene da prosomatostatina revelou duas formas moleculares: a SOM 14 e a SOM 28. Pelo menos cinco receptores para a somatostatina (SSTR1–SSTR5) foram identificados (Yamada et al., 1992).

Na esquistossomose mansoni murina existe um circuito regulatório de neurocinas/neuropeptídeos caracterizado pela substância P (SP) e pela somatostatina (SOM), que operam nos granulomas e nos órgãos linfóides, como o baço. Enquanto vários mediadores inflamatórios podem induzir a expressão de SOM nos macrófagos do granuloma e macrófagos do baço, a SP, que é produzida pelos eosinófilos do granuloma, inibe a síntese de SOM. Então, o balanço dessas neurocinas pode determinar a intensidade e a natureza da resposta inflamatória e mais especificamente a regulação dos granulomas nos hospedeiros infectados por *S. mansoni* (Weinstock et al., 1999; Sandor, Weinstock & Wynn, 2003).

Experimentos realizados por Weinstock et al. (1999) evidenciaram que camundongos KO para o receptor da substância P e infectados com *S. mansoni* apresentam uma formação anormal dos granulomas hepáticos. Dessa forma, a SP pode ser uma molécula-chave em lesões hepáticas e na granulomatogênese.

A SOM, por sua vez, tem ação antagônica à SP e pode ter ação terapêutica em algumas doenças do trato gastrointestinal. A administração de SOM tem sido bem-sucedida em desordens pancreáticas e esofagianas (Bordas et al., 1988). Uma íntima associação entre a somatostatina endógena e a fibrose hepática foi observada por Chatterjee et al. (2004). Esses autores demonstraram a presença de receptores da somatostatina no ovo de *S. mansoni* e nos estágios de verme adulto.

O antígeno solúvel do ovo (SEA) de *S. mansoni* desencadeia inflamação hepática e fibrose. Níveis de somatostatina podem inibir a produção do antígeno solúvel do ovo, mediante interação com os receptores de somatostatina na superfície do ovo, além de regular o nível da fibrose. Estudos de Reynaert et al. (2001) demonstraram a presença de três receptores para a somatostatina (SSTRs 1, 2 e 3) nas células hepáticas estrelares de ratos. Esses receptores para a somatostatina podem funcionar como alvos terapêuticos para redução da fibrose hepática, ao passo que o tratamento com somatostatina exógena diminui a produção de colágenos I e III e de alfa-actina do músculo liso. Provavelmente a somatostatina exerce suas ações inibitórias (antifibrosante) e antiapoptóticas sobre células hepáticas estelares através dos SSTRs, especialmente SSTR2 (Song et al., 2004).

O potencial da somatostatina na modulação da patologia da esquistossomose tem sido alvo de alguns estudos. *S. mansoni* apresenta receptores para esse neuropeptídeo, indicando que os níveis circulantes de somatostatina podem influenciar a fibrose hepática causada por esse parasita. Em um estudo de Chatterjee et al. (2005), no qual foram administradas doses exógenas de somatostatina em camundongos infectados por *S. mansoni*, a fibrose gerada foi menor quando comparada aos animais-controle. Leucócitos do granuloma esquistossomótico expressaram principalmente SST2 (Elliott et al., 1999).

Além da somatostatina e da substância P, o peptídeo vasoativo intestinal (VIP) é também encontrado em granulomas. Trata-se de um neurotransmissor do cérebro e de nervos periféricos. O VIP é produzido por macrófagos no granuloma esquistossomótico. Esplenócitos e células do granuloma possuem receptores VIP, que são de dois tipos: VIP 1 e VIP 2. O VIP diminui a proliferação de células T induzidas por SEA e a produção de células CD4+ dependentes da produção de IL-2 (Metwali et al., 1993a).

Apesar de o granuloma não ser inervado, os neuropeptídeos, produzidos principalmente por macrófagos, podem compensar esse evento, atuando como um 'componente neural granulomatoso' e participando de interações elaboradas com células imunes e inflamatórias, como foi apresentado por Weinstock et al.

(1999) e Sandor, Weinstock & Wynn (2003). A detecção *in situ* em granulomas hepáticos mostrou que SP, somatostina e sinaptofisina são produzidas principalmente na região periférica de granulomas exsudativos, ou também na região central, no caso da SP, sendo monócitos/macrófagos as células responsáveis (Lenzi et al., 2006; Andrade-Costa & Lenzi, dados não publicados) (Figuras 17-20).

Figuras 17 e 18 – Expressão de sinaptofisina na zona periférica de granulomas exsudativo-produtivos hepáticos, em camundongos *Swiss Webster* com sessenta dias de infecção

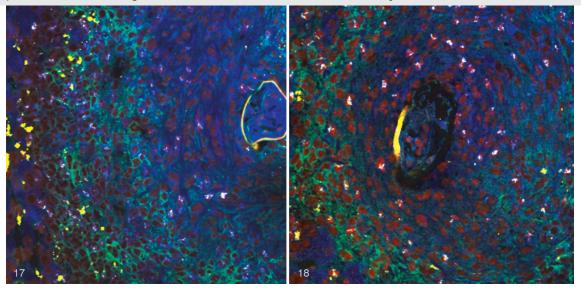



Foto: H. L. Lenzi e Tatiane Andrade Costa (imunofluorescência lida em confocal).

Figuras 19-20 – Expressão de substância P nas zonas periférica e central de granulomas exsudativo-produtivos hepáticos, em camundongos *Swiss Webster* com sessenta dias de infecção. As células fortemente marcadas na zona central correspondem a macrófagos

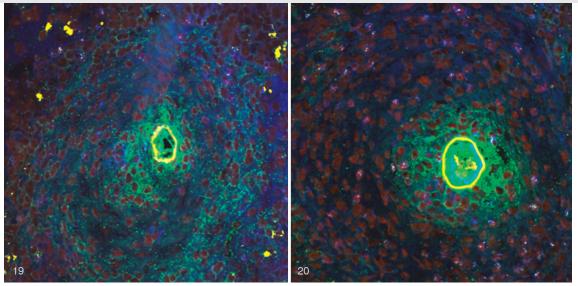



Foto: H. L. Lenzi e Tatiane Andrade Costa (imunofluorescência lida em confocal).

Granulomas esquistossomóticos murinos isolados mostraram também conter atividade promotora de crescimento neural, em cultura, que foi parcialmente abolida com anticorpo anti-NGF (*neural growth factor*), sugerindo que NGF não é o único fator neurotrófico presente em granuloma esquistossomótico. Esse fator, em granuloma, é provavelmente produzido por macrófagos e fibroblastos. Seu papel no granuloma ainda está para ser determinado, porém sabe-se que estimula a degranulação de mastócitos, aumenta a expressão de receptores de IL-2 em linfócitos humanos em cultura, estimula a diferenciação basofílica dependente de T e a proliferação de linfócitos esplênicos de ratos (Varilek, Weinstock & Pantazis, 1991).

Adipocinas

Outras citocinas, como as adipocinas, derivadas principalmente do tecido adiposo, regulam a fibrose hepática. A leptina é necessária para a ativação das células estrelares hepáticas e o conseqüente desenvolvimento da fibrose (Potter, Rennie-Tankesley & Mezey, 2003). Entretanto, uma adipocina antagonista, a adiponectina, inibe a fibrogênese no fígado *in vitro* e *in vivo* (Battaler & Brenner, 2005).

A leptina é também um mediador endócrino, que é parcialmente regulado por outros hormônios, como insulina, corticoesteróides, esteróides sexuais e principalmente testosterona. Outros, como os hormônios do crescimento e o tireoidiano, podem estar envolvidos com a síntese de leptina (Wauters, Considine & Van Gaal, 2000). É possível também que o sistema nervoso simpático possa regular a produção de leptina através de adrenoreceptores $â_3$ (Trayhurn et al., 1998). Ainda é desconhecida qual a relação funcional entre a leptina e os neuropeptídeos localizados no interior dos granulomas, como a SP, SOM e VIP (Weinstock et al., 1999; Sandor, Weinstock & Wynn, 2003; Lenzi et al., 2006).

A adiponectina possui algumas funções efetoras fisiológicas com ação antitumoral, agindo como molécula inibitória da angiogênese, induzindo apoptose por intermédio de uma sinalização dependente de caspase (Ding et al., 2005). Enquanto a leptina ativa as células estrelares hepáticas (HSCs) e induz a fibrose, a adiponectina inibe a proliferação das HSCs. Por isso, como a somatostatina, a adiponectina tem sido utilizada em abordagens terapêuticas para inibir a fibrogênese.

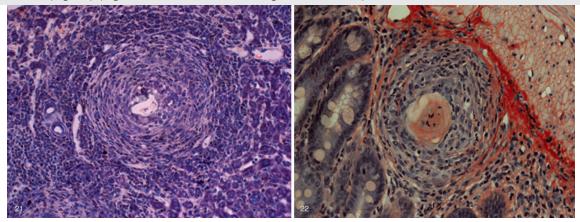
Existe contradição na literatura sobre a localização das moléculas precursoras da leptina. Potter et al. (1998) e Ding et al. (2005) demostraram que apenas as células estrelares hepáticas ativadas, e não as quiescentes, eram capazes de produzir essa adipocina. Dessa forma, células de Kupffer e hepatócitos não seriam locais de produção da leptina. Recentemente, Lenzi et al. (2006) mostraram que granulomas esquistossomóticos do tipo exsudativo-produtivo expressam grande quantidade de leptina e de seu receptor. A leptina foi localizada nas três zonas do granuloma, enquanto os receptores de leptina predominaram na zona externa. Porém, pouco se sabe ainda sobre a ação de adipocinas na modulação do granuloma.

Influência do Ambiente ou do Órgão na Modulação do Granuloma

Dependendo do órgão em que os granulomas são formados, eles apresentam variações estruturais e celulares e se comportam de modo diferente em relação ao fenômeno modulatório. Essas variações dependem também do modelo animal utilizado. Por exemplo, em *Swiss Webster*, a alteração estrutural diferencial mais evidente entre os granulomas hepáticos e de outros órgãos (pulmões, intestino, pâncreas, mesentério, omento) é a presença, em fígado e de modo mais proeminente nos granulomas exudativo-produtivos, de uma zona externa com freqüente metaplasia hematopoética (Byram, Imohiosen & von Lichtenberg, 1978; Borojevic, Stocker & Grimaud, 1981; Lenzi, Sobral & Lenzi, 1987; Lenzi et al., 1995)

(Figuras 21, 22). Esse evento, em nossa experiência, foi encontrado somente uma vez em granulomas pulmonares e nunca em granulomas intestinais, pancreáticos e de outras localizações. Hematopoese extramedular também não foi verificada em granulomas hepáticos de *Calomys callosus* (Rodentia: Cricetidae) (Lenzi et al., 1995). Em relação à modulação, granulomas pulmonares, em camundongos com desvios vasculares (*shunts*), não sofrem modulação negativa, como é observada em fígados dos mesmos animais, na fase crônica da infecção (Souza Vidal, Barbosa Jr. & Andrade, 1993). Granulomas pulmonares em camundongos com desvios porto-cava eram resistentes à regulação negativa por anti-IL-4, enquanto que granulomas provocados por ovos injetados intravenosamente eram modulados. Essa diferença foi atribuída à baixa potência antigênica dos ovos injetados, comparados com aqueles postos, *in situ*, pelos vermes adultos (Eltoum et al., 1995). Weinstock & Boros (1981) observaram que, nas infecções crônicas, no fígado, cólon e placas de Peyer em íleo ocorria uma diminuição espontânea no tamanho da resposta granulomatosa a ovos recém-gerados (modulação). Essa modulação era mais precoce, no transcurso da infecção, em cólon e placas de Peyer que no fígado. Por outro lado, granulomas em íleo eram menores que nos demais órgãos e não sofriam modulação na fase crônica da infecção. Posteriormente, Weinstock & Boros (1983) mostraram que há diferenças na composição e função dos granulomas, a depender do órgão em que são originados. Os granulomas hepáticos continham, percentualmente, um número maior de linfócitos T (11,2 ± 2,1) e B (4,0 ± 1,5), eosinófilos (54,0 ± 4,0), macrófagos (29,8 ± 3,7) e mastócitos (< 1%), enquanto que granulomas em íleo eram compostos essencialmente por macrófagos (75,7 ± 3,5), com número pequeno de células T (2,5 ± 1,2) e ausência virtual de células B (< 1%). Em granulomas colônicos predominavam macrófagos, eosinófilos e linfócitos T. O padrão de distribuição dos linfócitos T e B, em granulomas, também variava de acordo com os órgãos. Em contraste com os granulomas hepáticos, granulomas colônicos e em íleo freqüentemente encontravam-se desprovidos de um halo linfocitário externo. Funcionalmente, granulomas hepáticos, isolados em cultura, produziam MIF (*macrophage inhibitory factor*), enquanto que cultura de granulomas colônicos ou em íleo isolados produziam pouco ou nenhum MIF. Jacobs et al. (1998) confirmaram que os granulomas hepáticos eram acentuadamente maiores em volume que os colônicos e em íleo, tanto na fase aguda como na crônica (13 a 16 semanas após a infecção). Os granulomas colônicos, por sua vez, eram maiores que os em íleo. Um declínio progressivo no volume médio dos granulomas hepáticos e colônicos foi verificado durante a infecção crônica. Essa modulação negativa não ocorreu nos granulomas em íleo. Não foram encontradas diferenças significativas, do ponto de vista morfológico, na expressão (modulação positiva) de moléculas de adesão (I-CAM-1, LFA-1, VLA-4 e VLA-6), quando comparados granulomas hepáticos com intestinais. Porém, aqueles autores (Jacobs et al., 1998; Jacobs & Van Marck, 1998) observaram imunorreatividade para sindecan-1 tanto nos granulomas em íleo como nos colônicos, em aparente contraste com os achados de Weinstock & Boros (1983), os quais não detectaram células B em granulomas em íleo e encontraram apenas um número moderado de células B em granulomas colônicos. Todavia, esses autores não especificaram a origem dos marcadores usados para células B. Nos granulomas em íleo, que não apresentam células B não estimuladas (*naive*), células B estimuladas por antígenos (*antigen-driven*), positivas para sindecan-1, estavam presentes em íntima associação com macrófagos portadores de antígenos ovulares (Jacobs et al., 1998). Silva et al. (2000) também confirmaram o comportamento variável dos granulomas, conforme o ambiente em que se situavam. Verificaram a ocorrência de modulação apenas em granulomas hepáticos, desde que granulomas pulmonares e intestinais, formados ao redor de ovos maduros, não mudaram em tamanho e aparência no transcurso da infecção. Todavia, o componente matricial estudado (colágenos

tipos I, II e IV, fibronectina, laminina, proteoglicanos e elastina) foi encontrado em todos os granulomas e em todos os órgãos examinados (fígado, pulmões e intestino). Contudo, os granulomas intestinais costumam ser menos fibrogênicos (Dunn & Kelley, 1979; Grimaud et al., 1987), contendo menos colágenos que os hepáticos e, após tratamento (100 mg de oxamniquine e duas doses de 200 mg de praziquantel), involuem mais rapidamente (Santos, Barbosa Jr. & Andrade, 1992). Cheever (1965b) chamou a atenção para a escassez de fibras reticulares nos granulomas pulmonares quando comparados com os hepáticos. De fato, a fibrose formada nos granulomas pulmonares alveolares é mínima e aparece na periferia dos granulomas. Durante a involução, essa fibrose desaparece completamente, juntamente com as células inflamatórias (Souza Vidal, Barbosa Jr. & Andrade, 1993). Em *Calomys callosus* (Lenzi JA et al.,1995), os granulomas esquistossomóticos hepáticos são pequenos, atingindo apenas 27% do volume dos granulomas hepáticos observados em *Swiss Webster*. São compostos principalmente por macrófagos grandes e imaturos, freqüentemente repletos de pigmento esquistossomótico, caracterizando um tipo de granuloma exudativo-macrofágico, sem ocorrência de mastócitos. Por outro lado, os granulomas intestinais de *C. callosus* são semelhantes aos de camundongo e exibem mastócitos (Lenzi JA et al., 1995). Parece que os granulomas hepáticos em *C. callosus* carecem de sinais de hipersensibilidade, embora esse cricetídeo não seja atímico (Lenzi JA et al., 1995).

Figuras 21 e 22 – Presença de hematopoese extramedular na zona periférica de granuloma esquistossomótico hepático exsudativo-produtivo (Fig. 21), em *Swiss Webster*, e ausência em granuloma intestinal (Fig. 22) (Fig. 21: Giemsa de Lennert; Fig. 22: Picrosirius)

Influência de Fatores Congênitos no Granuloma via Placenta e Aleitamento

Duas situações diferentes ocorrem em áreas endêmicas: somente poucos indivíduos desenvolvem a forma hepatoesplênica crônica grave; a forma clínica clássica de infecção toxêmica aguda não é encontrada em residentes de áreas endêmicas, mas sim em pessoas, especialmente jovens, que eventualmente visitam essas áreas (Bina & Prata, 1984). Essas duas situações decorrem de mecanismos diversos, uns agravando a doença e, outros, atenuando-a, e ambos podem ser influenciados por fatores congênitos ou genéticos (no pré-natal) ou pelo aleitamento (no pós-natal) (Lenzi et al., 1987). Vários trabalhos mostraram a passagem de anticorpos (alguns com atividade antiidiotípica) e/ou antígenos de mães infectadas para seus conceptos através da placenta (Lees & Jordan, 1968; Hyllier et al., 1970; El-Raziky et al., 1978; Abbassy et al., 1978; Carlier et al., 1980; Novato-Silva, Gazzinelli & Colley, 1992; Romia et al., 1992; Hassan et al., 1997;

Attallah et al., 2003) ou do 'leite materno' (Santoro et al., 1977; Noureldin & Shaltout, 1998; Attallah et al., 2003). Todavia, a dificuldade de investigar o efeito desses fatores congênitos na infecção em humanos incentivou o estudo em murinos, onde foram relatados resultados contraditórios. Esses variaram desde a verificação de nenhum efeito, quando em comparação com o grupo-controle (Weinmann, 1960; Taylor, Denham & Nelson, 1971), imunotolerância (Lewert & Mandlowitz, 1969; Hang, Boros & Warren, 1974), piora da infecção (Borojevic, Santoro & Grimaud, 1977), resistência parcial (Beltrão, 1979) ou uma rápida modulação nas lesões periovulares, formando granulomas precocemente fibróticos (Andrade & De Azevedo, 1987), ou diminuição em áreas de necrose coagulativa no fígado, número menor de ovos no intestino delgado e presença predominante de granulomas exsudativos, os quais eram também menos intensos, do que granulomas em estágio exsudativo-produtivo vistos nos grupos-controle (Lenzi JA et al., 1987). Lenzi JA et al. (1987) observaram que as conseqüências, sobre a infecção, resultantes de fatores congênitos via placenta ou aleitamento são variáveis, dependendo se são analisadas no início, no meio ou após o período de aleitamento. Montesano et al. (1999a) expuseram camundongos CBA/J, com menos de 24 horas de idade, a anticorpos antiidiotipos anti-SEA e observaram diminuição significatica no tamanho dos granulomas e nos níveis de fibrose hepática. Há poucos estudos na literatura que versam sobre a transferência de anticorpos, pela placenta e/ou aleitamento, da mãe para fetos ou camundongos recém-natos (Bruijning & de Vries, 1987; Lenzi JA et al., 1987; Maghraby, Mohamed & Abdel-Salam, 2005).

Telomerase e Granuloma[1]

A telomerase é uma ribonucleoproteína capaz de restabelecer as regiões teloméricas, ou seja, as extremidades dos cromossomos por meio de sua atividade de transcriptase reversa (Blackburn, 2005b). Dentre suas diversas funções, a mais conhecida é a de manutenção da integridade dos telômeros, que se caracteriza em mamíferos, pela repetição dos nucleotídeos $(TTAGGG)_n$. Essa região conjugada a algumas proteínas formam uma volta na ponta dos cromossomos, o que os protege da degradação (Bekaert, Derradji & Baatout, 2004; Blackburn, 2005b). Além disso, mantém também algumas regiões gênicas próximas às pontas teloméricas silenciadas (Ohyashiki et al., 2002; Blackburn, 2005b; Li et al., 2005). A perda dos telômeros pode acarretar então o evento conhecido como crise telomérica. Esse estado pode derivar nas conhecidas instabilidades genéticas, tanto comportamentais quanto estruturais, modificando a expressão de genes que estavam silenciados, ou induzir o silenciamento de genes previamente ativos e propiciar a fusão de telômeros, acarretando aberrações genéticas como as translocações (Blackburn, 2001).

Os telômeros estão envolvidos em mecanismos intrínsecos celulares, conhecidos como 'relógio molecular' (Akiyama et al., 2004). A cada ciclo celular há uma perda da região telomérica e, quando há um encurtamento exacerbado desta região, a célula perde o potencial proliferativo. Essa observação mostra que existe um número de proliferações possíveis de cada célula enquanto há telômeros íntegros (Blackburn, 2001; Klapper, Parwaresch & Krupp, 2001; Rubin, 2002), entretanto quando ocorre a crise telomérica esta célula pode ativar os mecanismos de apoptose ou se manter em estado de diferenciação terminal (quiescente em termos de proliferação), corroborando com o modelo proposto por Hayflic (Blackburn, 2000; Klapper, Parwaresch & Krupp, 2001; Rubin, 2002). Esse modelo sugere que o número de divisões é o marcapasso na vida celular e não o tempo cronológico. Além disso, sugere também que

[1] Trecho de autoria de Flavia Rachel Moreira Lamarão e Milton Ozório Moraes.

células com maior potencial de diferenciação são células que ou participam de um tecido propício a esta função ou são indiferenciadas; já as com menor potencial multiplicativo são células em diferenciação terminal ou senescentes (Klapper, Parwaresch & Krupp, 2001; Rubin, 2002). Existem algumas doenças, com características de envelhecimento precoce, que estão relacionadas ao encurtamento dos telômeros, como síndrome de Werner, síndrome de Bloom, síndrome de Down, ataxia telangiectasia, entre outros, o que corrobora o papel de relógio molecular dos telômeros (Klapper, Parwaresch & Krupp, 2001).

Além disso, a atividade dessa enzima possui aspectos espaço-temporais importantes durante toda a ontogênese nos mamíferos, onde geralmente é expressa em muitas células e tecidos, nas fases primordiais do desenvolvimento (Martin-Rivera et al., 1998). Persiste, também, nas fases mais maduras, em locais restritos em que haja uma alta taxa de células precursoras ou em constante proliferação como, por exemplo, a medula óssea, linfonodos, testículos e ovários e, no caso em estudo, do granuloma esquistossomótico. Porém, a atividade da telomerase não é detectada na maioria das células diferenciadas dos mamíferos e a exacerbação da sua expressão está relacionada a neoplasias (Balckburn, 2005a) incluindo as hematopoéticas (Ohyashiki et al., 2002), os hepatocarcinomas (Farazi et al., 2006), as metástases no fígado de câncer colo-retal (Neal et al., 2006). Curiosamente, os comportamentos relacionados às células imaturas são convergentes aos das células ditas transformadas, pois estas têm a capacidade de ativar mecanismos de desdiferenciação, voltando um passo atrás em termos de plasticidade celular, com conseqüente aumento da capacidade proliferativa (Beitzinger et al., 2006).

É importante observar que a expressão da telomerase é dificilmente detectada, em camundongos, para reposição do estado de crise telomérica. Esses animais possuem uma proteção evolutiva onde seus telômeros têm uma estimativa de tamanho entre 20-150 Kb enquanto os cromossomos humanos possuem 5-15 Kb (Klapper, Parwaresch & Krupp, 2001; Bekaert, Derradji & Baatout, 2004). Isso pode indicar que, mesmo diante de um estresse proliferativo intenso, não é detectado facilmente o estado 'crítico'. Logo, esses animais não necessitariam do restabelecimento do tamanho dos telômeros mediante expressão da telomerase com a mesma freqüência que os seres humanos. Essa observação pode salientar que a reação granulomatosa esquistossomótica propicia um estado de alto estresse oxidativo (Abdallahi et al., 1999), proliferativo (Williams et al., 2005; Lenzi et al., 2006) e de injúria ao tecido hospedeiro (Lenzi et al., 1998; Abdallahi et al., 1999; Chiarini et al., 2006) nos animais infectados.

A reação granulomatosa, mesmo sendo uma reação localizada, é acompanhada de reação sistêmica expressa por intensa reação na medula óssea e por vários focos hematopoéticos extramedulares envolvendo o organismo como um todo (Lenzi et al., 2006). As diferentes fases da reação granulomatosa resultam em expressões que refletem, como resultante final, os padrões internos, como mencionado no subitem Modelos Internos, e em todas as suas fases há um balanço entre injúria do tecido hospedeiro, recrutamento de células imaturas, a alta proliferação (com capacidade, inclusive, de hematopoese extramedular), formação de matriz extracelular e apoptose) (Lenzi et al., 1995, 2006; Rossi et al., 1999).

Esses fatores, aliados, contribuem para a formação de um novo 'nicho' celular, o qual possui como característica uma fina auto-regulação das células que o ocupam e o transformam. Dessa maneira, a telomerase tem sido apontada como um indicador comportamental, em mamíferos, para

- células precursoras (Bekaert, Derradji & Baatout, 2004; Martín-Rivera et al., 1998);
- células diferenciadas pertencentes a órgãos com alta renovação celular (Bekaert, Derradji & Baatout, 2004) e/ou;

- células que estão recebendo 'de novo' o potencial proliferativo mediante reposição das extremidades dos telômeros e;
- a atividade da telomerase e manutenção da estabilidade de telômero estão associadas com aumento da resistência celular à apoptose (Holt et al. 1999; Zhang et al., 1999; Bekaert, Derradji & Baatout, 2004; Blackburn, 2005b; Beitzinger et al., 2006). Dessa maneira, não seria surpreendente a análise da expressão da telomerase inserida no contexto da reação granulomatosa, uma vez que sua expressão pode promover melhor desempenho das células participantes desse hábitat peculiar.

Conseqüentemente, a reação granulomatosa se enquadra dentro desses padrões que podem ser analisados tanto pelo prisma imunológico, quanto pelo da morfogênese (Lenzi & Romanha, 2003). Esses fatores, enumerados anteriormente, são evidenciados pelas análises da expressão de c-Kit, característico de células imaturas; Ki-67 (Lenzi et al., 2006) e SmEp2 (Williams et al., 2005), representativo de células em proliferação; e receptores para fatores de crescimento hematopoéticos, como aqueles mencionados no subitem Fluxos, na reação granulomatosa.

A expressão da telomerase como um marcador comportamental pode representar uma nova abordagem no entendimento da reação granulomatosa, abrindo caminhos que podem contribuir para o entendimento da mobilização de células precursoras até o local da inflamação, a proliferação extramedular e/ou de uma possível associação da inflamação crônica como geradora de diferentes perfis de expressão gênica, uma vez que o estado inflamatório tem sido apontado como um precursor de instabilidades genéticas (Abdel-Rahim, 2001; Balkwill & Mantovani, 2001).

Repercussão Funcional dos Granulomas Hepáticos

Bloch, Wahab & Warren (1972), com uso de microscopia *in vivo*, analisaram, seqüencialmente, o fígado de camundongos infectados por vinte cercárias de *S. mansoni*, começando na quinta semana pós-infecção e, após, na quinta e meia; na sexta; na oitava; na décima; na décima-oitava e meia; na décima-nona; na vigésima e na vigésima-primeira semanas. Os aspectos mais marcantes durante o curso da infecção foram: fluxo sanguíneo rápido e não pulsátil na microvasculatura hepática; presença de parênquima morfologicamente normal em relativa proximidade aos granulomas; e presença de microvasos atípicos nos granulomas. Os ovos foram observados na maioria dos ramos periféricos da veia porta, onde bloqueavam parcial ou completamente o fluxo. Somente o tecido hepático imediatamente adjacente aos granulomas estava anormal. Esta anormalidade era expressa por células hepáticas e sinusóides distorcidos. Os hepatócitos estavam comprimidos e com contorno irregular, enquanto os sinusóides eram tortuosos. Bloch, Wahab & Warren (1972) procuraram, então, avaliar a influência da embolização ovular na função do órgão. Consideraram a unidade funcional do fígado a menor massa de tecido que contém todas as estruturas que participam nas funções do órgão e que não correspondem ao lóbulo hepático. Essa unidade consiste da massa de tecido cujo eixo está localizado no centro de cada sinusóide, que interliga uma vênula interlobular portal e uma veia central ou sublobular. O volume dessa unidade é delimitado por um raio, que se estende do centro de um sinusóide ao centro das trabéculas hepatocitárias imediatamente adjacentes. Com isso, delimita-se uma massa de tecido hepático, cujo raio consiste de um sinusóide com metade das células hepáticas em cada lado do vaso. O comprimento da unidade, um cilindro, sempre começa na junção de um sinusóide com uma vênula interlobular portal e usualmente se estende até a junção sinusoidal com uma vênula central, podendo se estender até uma vênula sublobular (esse

comprimento é ajustado dinamicamente). A unidade pode, na sua origem, ser acoplada por um pequeno ramo arterial, correspondendo à porção terminal do sistema arterial hepático. Além disso, a unidade contém também um espaço perisinusoidal circunferente, que se conecta com o sistema linfático, os canalículos biliares e nervos (simpáticos e parassimpáticos sensoriais) (Bloch, 1970) (Figura 23). O volume de tal unidade, em camundongos, é de aproximadamente 158.200 μm^3, baseado no cilindro de comprimento médio de 350 µm, com raio médio de 12 µm (volume de um cilindro = $\pi r^2 h$) (Bloch, Wahab & Warren, 1972). Assim que um ovo se aloja no segmento terminal de uma vênula interlobular portal, que tem diâmetro médio em torno de 40 µm a 50 µm (semelhante ao tamanho do ovo), compromete o fluxo sanguíneo de dez a vinte unidades funcionais, provocando desde sua completa parada à redução moderada, determinando anóxia das unidades comprometidas (Figura 24). Assim, a anóxia provocada por um único ovo pode interferir no metabolismo de um volume de células hepáticas correspondente a 89.000 μm^3 por unidade funcional e com um volume celular mínimo de 890.000 μm^3 (Bloch, Wahab & Warren, 1972). Supondo que cada ovo bloqueie dez unidades funcionais e que substâncias tóxicas não sejam liberadas pelos ovos, numa infecção com vinte cercárias, 830, 176.230 e 273.600 unidades funcionais foram comprometidas na quinta, décima e vigésima semanas de infecção, respectivamente. Assumindo que o fígado de camundongo contenha aproximadamente $4{,}5 \times 10^6$ unidades funcionais, na vigésima semana de infecção o máximo de efeito provocado somente pelos ovos foi de apenas 6% (273.600) do total das unidades funcionais, justificando por que camundongos infectados por *S. mansoni* não costumam apresentar alterações significativas nas funções hepáticas (Bloch, Wahab & Warren, 1972; Warren, 1968). Mesmo quando ocorre um grande influxo de ovos para o fígado (± 25 mil), menos de 10% do total das unidades hepáticas são comprometidas, sendo um número insuficiente para alterar as funções hepáticas (Bloch, Wahab & Warren, 1972). As conseqüências da formação de granulomas, por outro lado, são mais profundas, interferindo na circulação hepática, como será visto a seguir.

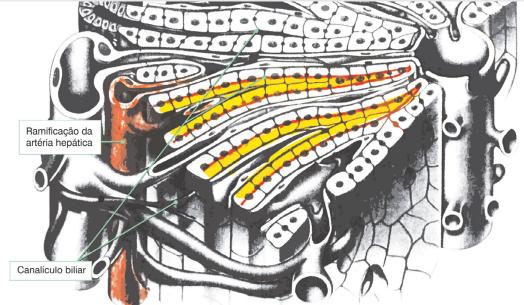



Figura 23 – Desenho de uma Unidade Funcional Hepática, segundo Bloch, Wahab & Warren (1972)

Obs.: Unidade funcional: raio = 12µm; comprimento = 350 µm; volume = ±158.200 μm^3 (área em amarelo).

Figura 24 – Desenho exemplificando as conseqüências anatomofuncionais de um único ovo de *S. mansoni* embolizado para o fígado, segundo Bloch, Wahab & Warren (1972)

Obs.: um ovo compromete 10-20 unidades funcionais.

Vascularização dos Granulomas Hepáticos

Inicialmente, os granulomas, ao se formarem, são avasculares, podem até quase triplicar o peso do fígado e se interpõem entre os vasos interlobulares portais e os sinusóides (Bloch, Wahab & Warren, 1972; Warren, 1972). Posteriormente, os granulomas e o tecido fibrótico resultante tornam-se vascularizados. Os novos vasos cursam do espaço interlobular para os sinusóides e o fluxo parece ser predominante ou exclusivamente arterial (Bloch, Wahab & Warren, 1972). Esses neovasos podem originar-se de segmentos terminais das artérias hepáticas, de *vasa vasorum* de vasos portais, do sistema vascular biliar, de vasos venosos interlobulares ou de sinusóides (Bloch, Wahab & Warren, 1972; Andrade & Cheever, 1971; Bogliolo, 1957). Parise et al. (1985), ao estudarem a expressão de proteínas de membrana e de pró-colágeno do tipo III em secções de fígados de camundongos infectados por *S. mansoni*, observaram que laminina e colágeno IV somente eram evidentes em novos vasos formados na periferia dos granulomas. Posteriormente, Lenzi, Sobral & Lenzi (1988), utilizando imunomarcações de secções hepáticas de camundongos com antígeno relacionado ao fator VIII, observaram, em camundongos infectados, a presença de células endoteliais na periferia e mesmo dentro de granulomas. A presença de angiogênese em granulomas hepáticos esquistossomóticos foi mais bem demonstrada por Baptista & Andrade (2005), por meio de imunomarcações, estudo ultra-estrutural e por injeção, no sistema porta, de tinta da Índia.

Significado do Pigmento Esquistossomótico

Estima-se que uma fêmea adulta de *S. mansoni* seja capaz de ingerir 330 mil hemácias por hora, ao passo que um macho adulto pode ingerir cerca de 39 mil hemácias por hora (Lawrence, 1973), utilizando

tanto as moléculas de globina da hemoglobulina, como o heme, para seu crescimento (Cheever & Weller, 1958; Bogitsh & Carter, 1977; Foster & Bogitsh, 1986; Zussman, Bauman & Petruska, 1970). Após a ingestão, as hemácias são rompidas pela ação de hemolisinas presentes no esôfago do parasito (Bogitsh, 1978; Kasschau & Dresden, 1986). A hemoglobina liberada no esôfago passa então para o intestino, onde é degradada no meio extracelular por enzimas proteolíticas do tipo catepsina (Brindley et al., 1997; Brinkworth et al., 2001). Uma hemoglobinase ácida possibilita que os esquistossomos clivem as cadeias a e b da globina e utilizem os fragmentos como fonte de aminoácidos para a síntese de proteínas, particularmente aquelas associadas com a ovogênese (Grant & Senft, 1971; Sauer & Senft, 1972; Senft et al., 1980). Durante esse processo de digestão de hemácias, heme ou seus subprodutos são regurgitados pelos vermes, como pigmento esquistossomótico, para a circulação. Esse pigmento foi claramente caracterizado como hemozoína (Hz), sendo as fêmeas muito mais eficientes que os machos em converter o heme em hemozoína: elas detoxificam mais de 50% do heme total em Hz, enquanto os machos convertem apenas 10% (Oliveira et al., 2000). As fêmeas têm uma atividade de agregação do heme maior que os machos, responsável pela maior quantidade de pigmento encontrada nelas. No entanto, os machos podem utilizar outros mecanismos para a detoxificação do heme, como a degradação do heme pela heme oxigenase (Ryter & Tyrrel, 2000) ou pela mediação da glutatione reduzida (Atamma & Ginsburg, 1995), explicando assim sua capacidade reduzida de converter o heme em Hz, quando comparada com a das fêmeas (Oliveira et al., 2000). De fato, a hemozoína é um agregado de heme e sua formação parece constituir um mecanismo protetor contra a toxicidade do heme, tranformando-o, por arranjo estereoquímico, num substrato menos acessível à participação em reações de oxidação-redução (Oliveira et al., 2002). Assim que o pigmento cai na circulação, passa a ser retirado do plasma pelas células de Kupffer do fígado e por outros componentes do sistema reticuloendotelial, principalmente no baço (Maines & Senft, 1981; Grimaud, Borojevic & Araújo dos Santos, 1976). Na patologia experimental da esquistossomose, a quantidade de pigmento é proporcional ao número de vermes adultos presentes no hospedeiro e à duração da infecção e não está relacionada com a quantidade de ferro (Kloetzel & Lewert, 1966; Ramadan & Michael, 1969). Capron et al. (1965) propuseram uma relação causal entre os depósitos de pigmento e fibrogênese em fígado. Todavia, Andrade (1965) e Stenger, Warren & Johnson (1967) observaram ausência de fibrogênese ao redor de células carregadas de pigmento. Lenzi JA et al. (1995) observaram que, em *Calomys callosus* infectados por *S. mansoni*, os granulomas hepáticos eram ricos em macrófagos com pigmento esquistossomótico e pobres em fibras reticulares e colagênicas. Em granulomas hepáticos murinos, inicialmente os macrófagos com pigmento localizam-se na periferia, podendo posteriormente adentrar o interior dos granulomas (Figura 25). Macrófagos túrgidos de pigmento constituem os últimos elementos a desaparecerem na involução dos granulomas hepáticos murinos (Lenzi et al., 1998) (Figura 26). Ainda não se sabe por que granulomas esquistossomóticos intestinais não exibem a presença de pigmento. A fagocitose, por monócitos humanos, de hemozoína de *Plasmodium falciparum*, que é semelhante à HZ de *S. mansoni* (Oliveira et al., 2000; Chen, Shi & Sullivan Jr., 2001), prejudica sua função de geração de produtos do oxigênio (*oxidative burst*), a habilidade para repetir a fagocitose, a atividade da proteína quinase C, a expressão de antígenos de tipo II do sistema de histocompatibilidade principal, de CD54 e CD 11c, bem como inibe a atividade Nadph-oxidase (Schwarzer & Arese, 1996; Schwarzer et al., 1992, 1998). Por sua vez, aumenta os níveis de lipoperóxidos, de 4-hidroxinonenal, de fator de necrose tumoral-a, de interleucina-1b, interleucina-6 e proteínas inflamatórias dos macrófagos dos tipos 1a e 1b (MIP = *macrophage inflammatory proteins*)

(Pichyangkul, Saengkrai & Webster, 1994; Schwarzer et al., 1996; Arese & Schwarzer, 1997). Utilizando macrófagos peritoneais, contendo Hz de *Plasmodium chabaudi*, Scorza et al. (1999) observaram que o pigmento afetou o processamento de antígenos e as funções moduladoras dos macrófagos, sendo um fator importante na imunossupressão associada à malária.

Figura 25 – Grande quantidade de pigmento esquistossomótico, localizado principalmente na zona periférica de granulomas esquistossomóticos hepáticos e em células de Kupffer, em *Swiss Webster* (fragmento de fígado murino esmagado entre duas placas de vidro e não corado, por estereomicroscopia)

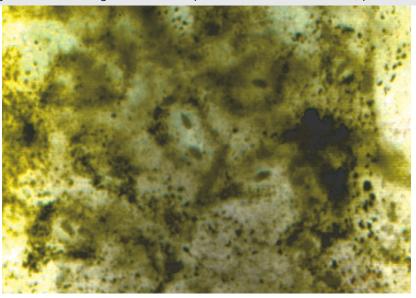
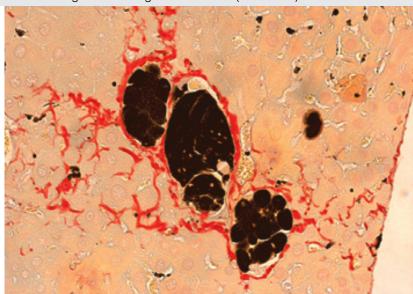



Figura 26 – Granulomas esquistossomóticos hepáticos involutivos, em camundongos *Swiss Webster* com um ano de infecção, constituídos por agregados de macrófagos repletos de pigmento esquistossomótico e circundados por um halo delgado de colágeno intersticial (Picrosirius)

Teleologia ou Finalidade do Granuloma

O granuloma opera como uma interface híbrida entre dois seres filogeneticamente diferentes – um trematódeo (*S. mansoni*) + um hospedeiro invertebrado (molusco) ou vertebrado (homem, camundongo, outros), tentando favorecer uma coabitação simbiótica entre eles (Lenzi JA, 1998). Ele não se forma para atacar o ser coabitante, mas serve para proteger o hospedeiro de produtos antigênicos e/ou tóxicos originados pelo agente granulomatogênico (miracídio no interior do ovo) (Reis & Andrade, 1987). Neste sentido, sua estrutura organóide está densamente arranjada, visando atuar como uma barreira eficiente. Além de integrinas e moléculas da superfamília das imunoglobulinas (Ritter & McKerrow, 1996; Jacobs & Van Marck, 1998; Jacobs et al., 1997a, 1997b, 1998; Romanha, 1999), as células do granuloma estão também conectadas por:

- junções comunicantes (*gap junction*). Essas junções conectam funcionalmente duas células adjacentes e são formadas por conéxons (= estruturas tipo canais, que possibilitam a passagem de pequenas moléculas, de aproximadamente 1,2 kDa, entre células). Foram demostradas, pela primeira vez, em granuloma, por Lenzi et al. (2006), por detecção *in situ* de conexina 43 (proteína que faz parte dos conéxons);
- junções de oclusão (*tight junction*) que controlam a passagem de substâncias entre duas células adjacentes (via paracelular). No granuloma, foram reveladas por intermédio de anticorpo contra ocludina (= fosfoproteína integral de membrana que interage com uma proteína transmembranosa da célula adjacente, chamada claudina) (Lenzi et al., 2006);
- moléculas de adesão dependentes de Ca^2, como as caderinas, que juntam célula-célula. Assim, o granuloma constitui uma estrutura esférica altamente organizada, com consumo energético mínimo e baixa entropia, que circunscreve o ovo e seus produtos, atuando como uma barreira biológica eficiente, protetora dos tecidos adjacentes (Lenzi JA, 1998).

Em suma, o granuloma se adequaria à idéia de complexidade organizada (Weaver, 1948; Johnson, 2003), segundo a qual o sistema segue regras específicas e, por meio da interação de seus componentes, cria um macrocomportamento distinto, arrumando-se de forma específica ou, com o tempo, formando um padrão específico. Esse tipo de comportamento parece predominante na natureza. O problema de 'complexidade desorganizada' seria mais adequado à resposta inflamatória clássica. Ou seja, o sistema (ou a resposta) é complexo porque há muitos agentes se inter-relacionando, mas é desorganizado porque não cria qualquer comportamento de nível superior, além de amplas tendências estatísticas (Johnson, 2003).

PATOLOGIA EXTRA-HEPÁTICA

Intestino

O surgimento de ovos imaturos no intestino, no transcurso da infecção, apareceram, pela primeira vez, tanto em *Swiss Webster*, como em *Calomys callosus*, a partir do 31º dia após inóculo, enquanto que ovos maduros foram detectados no 35º em *C. callosus* e no 36º em *Swiss Webster* (Lenzi, 1998). O início da eliminação de ovos nas fezes de *C. Callosus* e de *Swiss Webster* foi verificado por Lenzi (1998) aos 35º

e 40º dias, respectivamente, antecedendo em oito dias o período de pré-patência, em *C. callosus* verificado por Mello (1979/1980), e coincidindo, em *Swiss Webster*, com os resultados de Mello (1979/1980) e Prata (1957). Lenzi JA (1998) observou, em intestino de *Swiss Webster*, um predomínio percentual (50% a 67%) de ovos sobre o fígado. Barreto (1961), ao infectar camundongos com quinhentas cercárias, também verificou que, depois do quadragésimo dia, a postura ovular ocorria com maior intensidade no intestino que no fígado. Ele atribui esse achado à presença de maior número de casais nas veias mesentéricas, fato não observado por Lenzi JA (1998) em *C. calosus*, aos 45 dias de infecção. Porém, em *Swiss Webster*, os vermes adultos migraram mais rapidamente para os vasos mesentéricos que nos *C. callosus* (Lenzi JA, 1998). Por outro lado, camundongos C57Bl/6, infectados com apenas um par de vermes, continham, no fígado, uma média de 79%-90% dos ovos retidos em tecidos, enquanto o intestino apresentava apenas de 10% a 21% (Cheever et al., 1994a). O estudo da distribuição de ovos ao longo do intestino revelou um número extremamente abundante nos mesmos, em vários estágios, no intestino delgado. Durante toda a observação, o número de ovos permaneceu sensivelmente maior nessa porção que no reto e ceco, com diminuição também próximo ao estômago (Brener, 1956). Quanto ao estágio dos ovos, até o sexagésimo dia predominavam os ovos imaturos, porém, entre o sexagésimo e o 85º dia, o número de ovos imaturos e maduros vivos era aproximadamente igual. Ovos mortos e cascas surgiam após o sexagésimo dia (Brener, 1956). As diferenças que ocorrem nos granulomas periovulares intestinais em relação aos hepáticos foram comentadas no subitem Influência do Ambiente ou do Órgão na Modulação do Granuloma. Bogers et al. (2000), ao analisarem intestino de camundongos OF1 infectados com *S. mansoni*, no período entre oito e 16 semanas de infecção, observaram no íleo uma inflamação difusa na mucosa, além da reação granulomatosa, que determinava espessamento da mucosa, com alargamento (*blunting*) das vilosidades. Havia também um significativo e transitório aumento no espessamento da muscular própria após 12 semanas de infecção, com infiltração de mastócitos do tipo de tecido conectivo. Ganglionite do plexo mioentérico era também notada e, raramente, os gânglios desse plexo continham células apoptóticas. Estudos farmacológicos de Bogers et al. (2000) mostraram também aumento significativo na contratilidade intestinal, indicando que a infecção esquistossomótica provoca uma enterite difusa, associada com aumento da resposta a agentes contráteis. Estudos desse mesmo grupo (Moreels et al., 2001) revelaram que em 12 e não em oito semanas de infecção ocorria aumento da contratilidade muscular no tecido murino inflamado e diminuição no trânsito intestinal. Fallon et al. (2000) também relataram alterações gerais no intestino de camundongos transgênicos para IL-9, que apresentam uma forte reação TH2, expressas por aumento substancial do íleo, associado com hipertrofia muscular, mastocitose, eosinofilia, hiperplasia de células caliciformes e aumento na secreção de mucinas. Babuínos quenianos (*Papio anubis*) exibiram, segundo Farah & Nyindo (1996), além da reação granulomatosa, em estudo por microscopias fotônica e eletrônica, hipertrofia da musculatura lisa e atrofia vilositária. A intensidade e distribuição dessas alterações eram menos acentuadas em babuínos previamente vacinados com cercárias atenuadas por irradiação. Por isso, esses autores sugeriram que a análise intestinal seja incluída como um dos indicadores da eficácia de vacina. Couto et al. (2002) estudaram o efeito de dietas hiper e hipoprotéica sobre a estrutura da mucosa jejunal de camundongos infectados com *S. mansoni*, e sacrificados 12 semanas após a infecção. Animais em dieta hipoprotéica tiveram curvas ponderais menos elevadas. Vilosidades foliáceas foram mais numerosas nos desnutridos infectados. Nas vilosidades dos animais infectados, ocorreu significativo aumento no número de células caliciformes, porém nenhuma diferença foi detectada entre os grupos ingerindo os dois tipos de dietas. Entre os desnutridos foi

detectada redução do número de enterócitos, condição agravada pela infecção. Vários tipos de infecção helmíntica, incluindo aquelas por *S. mansoni*, induziram, em camundongo, hiperplasia de células de Paneth e de células intermediárias das vilosidades intestinais. O aumento no número dessas células estava, aparentemente, correlacionado com o padrão de resposta TH2 (Kamal et al., 2002). Muller et al. (2001) observaram perfis lipídicos (triacilglicerol e ésteres de colesterol) significativamente diminuídos em fígado e íleo de camundongos com o progredir da infecção esquistossomótica.

A infecção esquistossomótica provoca também alterações na inervação e na vasculatura intestinal, com repercussões funcionais (Kloetzel, 1971; Block, 1980; Varilek et al., 1991). Raramente, ocasiona morte de neurônios intestinais (Van Nassauw et al., 2001). Do ponto de vista funcional, a infecção esquistossomótica interfere na modulação purinérgica (adenosina e ATP) e colinérgica da atividade neural do intestino. Em condições fisiológicas, receptores neurais A-1 de adenosina modulam a atividade colinérgica em íleo de camundongo (De Man et al., 2003). Somatostatina (0,1-1,0 mM) inibe, de acordo com a concentração, a contração muscular decorrente de estimulação neural, em camundongos controles não infetados e em camundongos na fase aguda da infecção por *S. mansoni* (duas a quatro semanas de infecção). Após oito semanas de infecção, o efeito da somatostatina foi menos pronunciado e, após 16 semanas, foi completamente abolido, indicando que, na fase crônica da infecção esquistossomótica, o circuito neurorregulatório da somatostatina no intestino delgado está alterado (De Man et al., 2002). Da oitava semana em diante, foi notado um aumento nas fibras nervosas, imunorreativas à somatostatina, tanto nas vilosidades intestinais como nos granulomas e um aumento na intensidade de marcação de receptores de somatostatina do tipo SSTR2A em neurônios mioentéricos colinérgicos, somatostatina negativos. Esse fato sugere que a infecção induz uma regulação positiva dos receptores referidos. Os níveis de somatostatina se correlacionaram negativamente com o número de ovos durante a fase aguda e estavam elevados na fase crônica da infecção. Como já frisado antes, experimentos farmacológicos revelaram que a esquistossomose diminui o efeito inibitório da somatostatina nas contrações neurogênicas. Por essa razão, De Jonge et al. (2003) concluíram que a esquistossomose influencia os níveis de distribuição e expressão de somatostatina e de SSTR2A em íleo murino, explicando o padrão alterado de sua contratilidade, na infecção. Outro estudo mostrou que a modulação pré-juncional da atividade colinérgica por receptores nicotínicos e de histamina tipo H1 estava alterada durante inflamação crônica intestinal provocada por *S. mansoni*, em camundongos, enquanto que a modulação por receptores alfa $_2$ estava preservada, trazendo mais um mecanismo para explicar distúrbios de contração muscular observados na infecção esquistossomótica (De Man et al., 2001).

Domingo & Warren (1969) não encontraram alterações funcionais em intestino de camundongos infectados, enquanto Vengesa & Leese (1979) e Sadek, Borges & Miszputen (1986) descreveram alterações na absorção da glicose, no transporte de fluidos e na atividade de dissacaridase.

Mecanismo de Eliminação de Ovos pelas Fezes

Para completar a fase vertebrada do ciclo de *S. mansoni*, os ovos necessitam sair das vênulas mesentéricas, e atravessar parte da parede intestinal antes de atingirem o conteúdo fecal. Essa capacidade 'invasiva' dos ovos de *S. mansoni* mereceu a atenção de vários pesquisadores durante muitos anos e continua, contudo, sendo um problema intrigante. Kloetzel (1967, 1968) postulou que enzimas proteolíticas liberadas por miracídios em desenvolvimento se difundem através dos poros dos ovos, facilitando a

passagem dos ovos através dos vasos e da parede intestinal. Todavia, Pino-Heiss, Brown e McKerrow (1985) não detectaram a presença de atividade de elastase e colagenase em ovos e miracídios de *S. mansoni*, reforçando a posição de Asch & Dresden (1979), os quais argumentaram que a atividade de colagenase de ovos vivos relatada previamente por Smith (1974) devia-se à contaminação bacteriana. Torres & Pinto (1945) sugeriram que a liberação de ovos de *S. mansoni* para a luz intestinal é devida ao processo inflamatório que os circunda. Doenhoff et al. (1978, 1981, 1986) e Dunne et al. (1983) evidenciaram, pela primeira vez, a relação entre o sistema imunitário do hospedeiro e a excreção de ovos de *S. mansoni*. Animais imunossuprimidos apresentavam redução no índice de excreção de ovos para as fezes, o qual era parcialmente restaurado mediante transferência de soro obtido em camundongos cronicamente infectados. A recuperação era mais efetiva após transferência de células linfóides (Doenhoff et al., 1978, 1981). Damian (1987) propôs que o granuloma funciona como um agente de deslocamento de ovos para o lúmen das criptas intestinais, devido à mobilidade de linfócitos T, B, plasmócitos, eosinófilos, neutrófilos, fibroblastos, macrófagos e células gigantes multinucleadas. Por outro lado, Lenzi, Lenzi & Sobral (1987), após analisarem secções seriadas de intestino, observaram que os ovos liberados para as fezes estavam sempre envoltos por reação inflamatória, especialmente eosinofílica e monocítico-macrofágica (fase exsudativa pré-granulomatosa) (Figuras 27-30). Essa observação possibilitou que eles formulassem as seguintes explicações (Lenzi et al., 1991):

- os ovos somente têm chance de serem eliminados para o lúmen intestinal durante a fase exsudativa pré-granulomatosa, quando ocorre uma intensa destruição da matriz extracelular periovular;
- produtos de eosinófilos ou de eosinófilos e de monócitos-macrófagos são os responsáveis pela corrosão da membrana basal e a destruição ou descamação das células epiteliais superpostas, abrindo, como conseqüência, canais ou túneis de passagem dos ovos para o lúmen intestinal;
- durante a fase exsudativa pré-granulomatosa, a produção de enzimas colagenase, elastase e protease não-específica pelos macrófagos e eosinófilos destroem as fibras da matriz extracelular do córion, criando um ambiente afibrilar e facilmente penetrável pelos ovos, possibilitando que eles sejam passivamente ejetados para as fezes pelo peristaltismo intestinal. A infiltração mastocitária, que ocorre na parede intestinal durante a infecção, associada à hipertrofia da camada muscular e em associação com nervos e neuropeptídeos, provavelmente intensifica o peristaltismo intestinal, contribuindo para a excreção ovular. Truden & Boros (1985), ao compararem os níveis de proteases neutras (colagenase, elastase) dentro e na secreção de granulomas, verificaram que os granulomas grandes de camundongos agudamente infectados continham e secretavam mais enzimas que granulomas menores e imunomodulados. Lenzi et al. (1991) sugeriram que mesmo a passagem de ovos do interior dos vasos para os tecidos é devido a mecanismos similares, isto é, destruição da parede vascular por produtos de células inflamatórias que circundam os ovos, não dependendo apenas da irritação mecânica provocada pelos ovos (Figuras 31, 32). O uso de dexametasona, em camundongos infectados, provocou uma diminuição de 40% a 60% do índice de ovos por grama de fezes/ovos retidos por grama de tecido (intestino ou intestino + fígado) (Lenzi, 1991). Às vezes eram encontrados aglomerados de ovos na parede intestinal de animais tratados com dexametasona, com escassa ou quase nula reação inflamatória em torno. A presença de maior número de ovos por grama de tecido nos animais que receberam corticóide indicou que a infecção desse grupo foi mais

intensa, não havendo inibição da postura ovular das fêmeas pelo tratamento (Lenzi, 1991). Doenhoff et al. (1978), em resultados não publicados, referiram também o encontro de uma redução na excreção de ovos em animais infectados e que receberam acetato de hidrocortisona, enquanto que o número de pares de vermes e o de ovos/par de vermes depositados no fígado não foram afetados.

Figura 27 – Ovo de *Schistosoma mansoni* recém-eliminado para o lúmen intestinal, em *Swiss Webster*, e fotografado por estereomicroscópio (seta). Nota-se também discreta congestão da mucosa

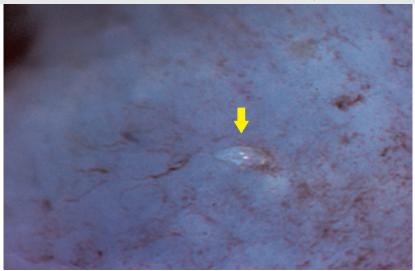
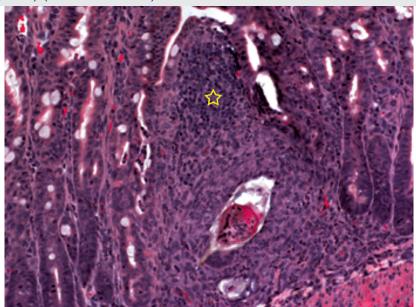
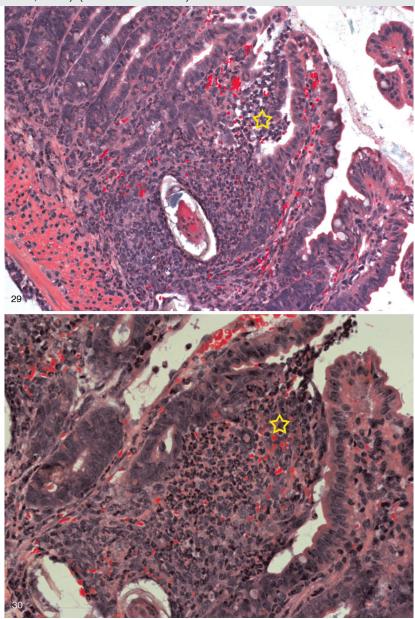
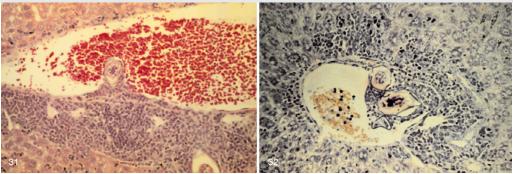



Figura 28 – Ovos de *Schistosoma mansoni* em processo de eliminação para as fezes de *Swiss Webster*, circundados por reação pré-granulomatosa exsudativa, com formação de ondas celulares (monócitos/macrófagos e eosinófilos), direcionadas para o lúmen intestinal (estrelas), que perfuram o epitélio intestinal, criando túneis para a eliminação dos ovos através dos movimentos peristálticos (ver Lenzi, Lenzi & Sobral, 1987) (hematoxilia-eosina)

Figuras 29-30 – Ovos de *Schistosoma mansoni* em processo de eliminação para as fezes de *Swiss Webster*, circundados por reação pré-granulomatosa exsudativa, com formação de ondas celulares (monócitos/macrófagos e eosinófilos), direcionadas para o lúmen intestinal (estrelas), que perfuram o epitélio intestinal, criando túneis para a eliminação dos ovos através dos movimentos peristálticos (ver Lenzi, Lenzi & Sobral, 1987) (hematoxilia-eosina)

Figuras 31 e 32 – Ovos de *Schistosoma mansoni*, em *Swiss Webster*, em contato com o endotélio e/ou parede de veia portal por meio de um coxim celular, que através de suas enzimas líticas lesa a parede vascular, facilitando a extrusão dos ovos para o território extravascular (ver Lenzi et al., 1991)

Nódulos na Serosa Intestinal e Granulomas Extratissulares na Cavidade Peritoneal

Lenzi JA et al. (2002) observaram, em *Calomys callosus*, o aparecimento, principalmente em machos, de numerosos nódulos intestinais, entre 55 e 160 dias de infecção, localizados na interface entre a camada muscular externa e a serosa intestinal (Figura 33). Os nódulos consistiam de tecido fibrovascular, formando uma calota sobre granuloma(s) localizado(s) centralmente. Os novos vasos intranodulares derivavam da camada vascular externa do intestino e eram positivos para laminina, condroitinsulfato, alfa-actina de músculo liso e antígeno relacionado ao fator VIII (fator de Von Willibrand). O estroma estava composto por células fibroblásticas e componentes da matriz extracelular (colágenos I, III e VI, fibronectina e tenascina). Eosinófilos, macrófagos e focos hemorrágicos entremeavam-se com os fibroblastos e vasos. Os autores chamaram a atenção para esses nódulos como excelente modelo para se estudar a fibrogênese e a angiogênese dependentes de ovo de *S. mansoni*. Nódulos semelhantes e proeminentes foram também observados por Rodrigues-Silva (1989) em *Nectomys squamipes*, infectados natural ou experimentalmente com *S. mansoni*. Portillo & Damian (1986) referiram a presença de nódulos granulomatosos subserosos em intestino de macacos *Sanguinus fuscicollis* infectados subcutaneamente com 150 cercárias de *S. mansoni* e necropsiados 18 meses após a infecção. Segundo eles, os nódulos correspondiam a uma resposta defensiva à presença, em parede intestinal delgada, de numerosos ovos seqüestrados. Nódulos subserosos resultantes de granulomas confluentes foram também relatados em humanos e em animais em experimentação com infecções crônicas (Kean & Dennis, 1971; Marcial-Rojas, 1971).

Nódulos que continham ovos eram encontrados também na cavidade peritoneal, onde se tornavam necróticos. Segundo Portillo & Damian (1986), essa queda dos nódulos para o interior da cavidade peritoneal representava um tipo mais acentuado de seqüestração. Melro & Mariano (1987) também detectaram a presença de ovos, circundados por reação inflamatória granulomatosa, na cavidade peritoneal de camundongos infectados com seis até 28 semanas. Análises histológica e ultra-estrutural revelaram que esses granulomas extratissulares eram compostos principalmente por macrófagos, com células epitelióides, eosinófilos, linfócitos e raros mastócitos. Segundo Melro & Mariano (1987), esses granulomas intraperitoneais mimetizam a resposta celular observada na cavidade celomática de animais invertebrados (Barracco & Menezes, 1985), demonstrando que a reação granulomatosa pode ocorrer sem a influência de tecido conjuntivo vascularizado adjacente.

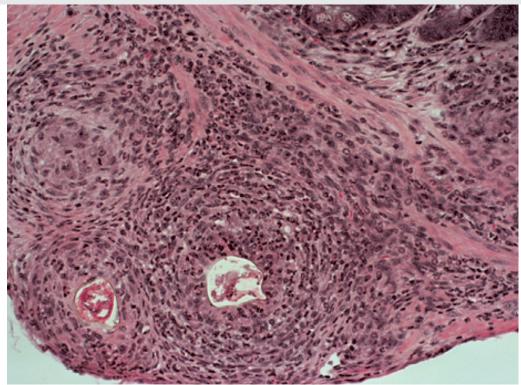



Figura 33 – Nódulo seroso em intestino delgado de *Calomys callosus* provocado por agregado de três granulomas, em dois dos quais se visualizam os ovos em seu centro (hematoxilia-eosina)

Pulmões

Experimentalmente, os pulmões não reproduzem as lesões vasculares observadas na esquistossomose pulmonar humana (Raso & Bogliolo, 1970; Sadigursky & Andrade, 1982). Utilizando-se de vários modelos animais, principalmente camundongos, as alterações pulmonares têm sido estudadas sob três aspectos:

- lesões naturalmente desenvolvidas no transcurso da infecção;
- granulomas induzidos por injeção intravascular de ovos purificados;
- camundongos 'não permissivos', com deslocamento de vermes adultos para os pulmões.

Os dois primeiros aspectos têm sido utilizados para estudos sobre a modulação dos granulomas e efeitos de vacinação. No subitem Influência do Ambiente ou do Órgão na Modulação do Granuloma foram destacadas algumas diferenças entre os granulomas hepáticos que ocorrem no transcurso da infecção e granulomas pulmonares provocados por injeção de ovos.

Ao analisar pulmões de camundongos *Swiss Webster*, infectados com setenta cercárias aos cinco dias de idade e mortos, seqüencialmente, aos 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 70, 80, 90, 100, 120 e 160 dias (seis animais/ponto) após a infecção, Lenzi (1991) observou os seguintes aspectos: granulomas periovulares foram, do mesmo modo que no pâncreas, detectados somente a partir de cinqüenta dias de infecção, sendo sempre do tipo exsudativo, rico em eosinófilos e monócitos/macrófagos. Apenas em animais com 160 dias de infecção se observou, além de granuloma exsudativo, a presença de granulomas

compostos quase que exclusivamente por macrófagos. Surpreendeu, nesse estudo, o encontro periódico de vermes adultos, principalmente fêmeas, em vasos arteriais intrapulmonares. Esse encontro freqüente de vermes adultos nos pulmões, durante várias fases da infecção, denota recirculação dos parasitos, ou sua passagem direta de vasos mesentéricos, através de vasos calibrosos do fígado, para a veia cava. Este fenômeno merece um estudo mais aprofundado sobre sua importância nos mecanismos de proteção ou imunopatológicos envolvidos na infecção esquistossomótica. Elsaghier et al. (1989) e McLaren (1989) observaram que a relocação de vermes adultos nos pulmões, freqüente na cepa de camundongos 129 (WEHI/129J ou 129/OLA), ocorre nos animais não permissivos à infecção. Nos pulmões, segundo esses autores, os vermes adultos ficam sujeitos às respostas efetoras do hospedeiro.

Ao estudar, comparativamente, *Swiss Webster* e *Calomys callosus* infectados com o mesmo número de cercárias, aos cinco dias de idade, Lenzi JA (1998) observou um pico de ovos (por grama e totais) aos noventa dias de infecção, tanto em relação a *C. callosus* quanto a *Swiss Webster*. Esses últimos, aos 160 dias, apresentaram 34,2 e 38,8 vezes mais ovos do que *C. callosus*, tanto por grama de tecido quanto por número total de ovos, respectivamente. Apesar desse aumento bem maior de ovos, os pulmões de *Swiss Webster* tiveram pesos médios de apenas 1,1 a 1,6 vezes mais do que os pesos médios dos pulmões de *C. callosus*.

Coura (1979) estudou a esquistossomose pulmonar em macacos *Cebus apella* e em coelhos. Dos 16 macacos inoculados uma só vez com cercárias de *S. mansoni*, os que foram sacrificados com um, três, seis, quinze e trinta dias após a inoculação mostraram, em estudo histopatológico dos pulmões, áreas de congestão e pneumonite, provavelmente em decorrência da fase aguda da infecção, por passagem de esquistossômulos pelos pulmões. Entretanto, em nenhum deles foram encontrados esquistosssômulos nos pulmões, talvez, segundo o autor, devido ao reduzido número de cercárias inoculadas (de cem a trezentas). Dos nove animais sacrificados com mais de quarenta dias de infecção, foram encontrados granulomas com ovos de *S. mansoni* no pulmão em quatro, dois dos quais apresentavam também vermes adultos. Em outro animal foi encontrado um granuloma do tipo corpo estranho e pigmento de *Schistosoma*. Um animal apresentava microlitíases no pulmão e células espumosas. Em três animais, o pulmão era normal, embora em um deles tenha sido encontrado no fígado o fenômeno de Hoepli periovular. Coura (1979) assinala a presença de vermes adultos de *S. mansoni* no lúmen brônquico e alveolar, refletindo, segundo ele, a presença de circulação vicariante entre o sistema arterial pulmonar e o brônquico. Observou também que, em animais reinfectados, a reação granulomatosa periovular era mais exuberante, com células gigantes multinucleadas e, eventualmente, visualizou a ocorrência de trombose em arteríolas pulmonares. A experiência realizada com embolização de coelhos com ovos de *S. mansoni* nos pulmões demonstrou claramente a evolução natural do granuloma, mais lenta nos animais não sensibilizados, progredindo desde a ausência da reação, com 24 horas, até a necrose, no sétimo dia, para tornar-se mais organizado no 14º dia, com células gigantes e epitelióides, ficando bastante definido no 28º dia (Coura, 1979).

Pâncreas[2]

Alterações pancreáticas em pacientes esquistossomóticos têm sido estudadas, tanto do ponto de vista morfológico (Zaky, 1960; Firky & Abdoul-Wafa, 1962; Firky, 1963; Mott et al., 1972; Raso, Pedroso & Neves, 1986) como funcional (Charee, 1941; Pereira & Barreto Neto, 1952; Mott, Neves & Betarello, 1971;

---

[2] Este trecho do capítulo contou com a participação de Mônica de Souza Panasco.

Mott et al., 1972). O pâncreas está comprometido, com mais freqüência, nas formas aguda (Neves, 1986) e hepatoesplênica da doença (Ladosky, 1958). Mott et al. (1972) observaram que 70% dos pacientes com a forma hepatoesplênica e hipertensão portal apresentavam tanto alterações histológicas como distúrbios funcionais, no pâncreas exócrino. Contudo, em pacientes com a mesma forma da doença, não foi observada má absorção intestinal (Mott, Neves & Betarello, 1971).

Ao estudar cinqüenta pacientes esquistossomóticos, Zaky (1960) encontrou 2% com deficiência de enzimas pancreáticas. Dois anos após, Firky e Aboul-Wafa (1962) demonstraram que as alterações funcionais pancreáticas deviam-se a níveis baixos das enzimas amilase, tripsina e lipase.

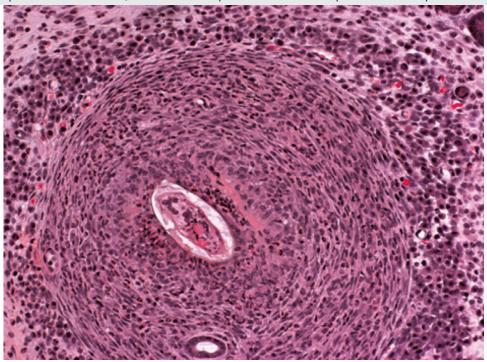
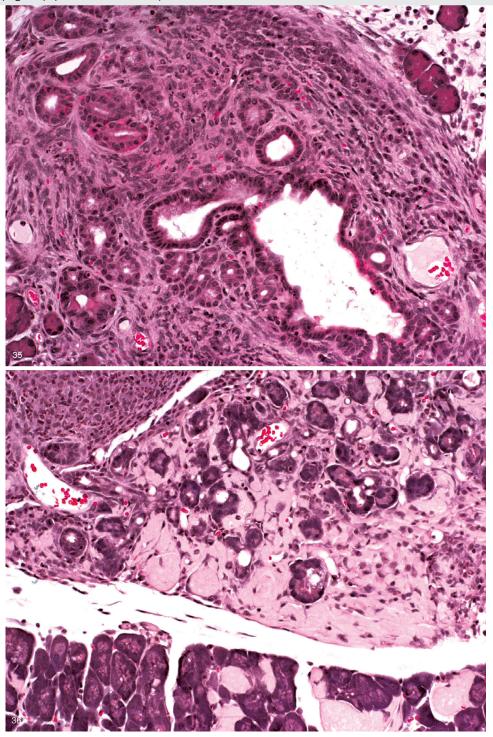
Em material de necrópsia, Galvão-Castro Filho & Andrade (1973) verificaram que as lesões causadas diretamente pelos ovos de *Schistosoma mansoni* são poucas e raras, e que as alterações funcionais pancreáticas devem-se mais aos efeitos de congestão venosa, resultante da hipertensão portal, do que às lesões causadas diretamente pelos parasitas. Já Raso & Bogliolo (1970) e Neves (1986) relataram ser freqüente o encontro de intensa inflamação granulomatosa difusa do parênquima pancreático, nas infecções maciças, principalmente na forma aguda toxêmica. Mais recentemente, Fataar et al. (1996) relataram dois casos de calcificação biliar e pancreática, em pacientes egípcios, com infecção mista por *S. mansoni* e *S. haematobium*, resultando em fibrose pancreática constatada por alterações radiológicas.

Dentre os trabalhos com roedores silvestres, especialmente cricetídeos, naturalmente infectados com *S. mansoni*, vale ressaltar os trabalhos com *Nectomys squamipes* de Silva (1984), Silva & Andrade (1989) e Rodrigues-Silva (1989). Silva (1984) capturou *N. squamipes*, naturalmente infectados, no município de Planalto, sul da Bahia, observando alterações pancreáticas que variaram desde a presença de vermes e ovos isolados até a ocorrência de pancreatite granulomatosa. Rodrigues-Silva (1989) também estudou 12 *N. squamipes* naturalmente infectados, oriundos de captura efetuada no município de Sumidouro, Rio de Janeiro. De 12 animais capturados, apenas um exibia pâncreas em estado habitual. Nos demais, o órgão estava comprometido em intensidade variável, revelando desde simples presença de ovos sem reação até acentuado envolvimento por pancreatite granulomatosa, com comprometimento exclusivo da parte exócrina ou podendo também atingir a parte endócrina. Já em *N. squamipes* com infecção experimental foi observada uma pancreatite granulomatosa, com envolvimento apenas da parte exócrina (Rodrigues-Silva, 1989).

Lenzi, Lenzi & Rosman (1989), em estudo seqüencial em camundongos com 15 a 160 dias pós-infecção esquistossomótica, mostraram que os granulomas apareceram do qüinquagésimo dia em diante e a pancreatite mais severa ocorreu entre noventa e cem dias de infecção. Dados semelhantes foram obtidos por Panasco (1996), também em estudo seqüencial em *Swiss Webster*, a partir de 45 dias de infecção com *S. mansoni*. A detecção de ovos e granulomas, nesta condição, foi mais precoce (45 dias pós infecção). A pancreatite apresentou caráter oscilante, sendo mais intensa na fase aguda (45-50 dias) e entre 80 e 100 dias de infecção, com posterior diminuição (aos 160 dias). Além disso, os níveis de amilase não estavam correlacionados com as lesões pancreáticas. Além de granulomas, as principais lesões pancreáticas encontradas na pancreatite esquistossomótica murina foram: atrofia lobular mínima ou intensa, infiltrado e edema interlobular e pseudocapsular, hiperplasia ductal, alteração eosinofílica em epitélio ductal, fibrose periductal, diminuição variável no número de ilhotas pancreáticas, presença de vermes adultos em veias pancreáticas (Lenzi, Lenzi & Rosman, 1989).

Lenzi JA (1998), ao estudar comparativamente o envolvimento do pâncreas em infecção por *S. mansoni* (Sm) em *Swiss Webster* (Sw) e *Calomys callosus* (Cc) observou os seguintes resultados: os ovos embrionados de Sm foram detectados em vênulas intralobulares no 32º (Cc) e 33º (Sw) dias e ovos maduros, no 37º (Cc) e

36º (SW) dias de infecção. As reações periovulares iniciais coincidiram com o aparecimento de ovos maduros e aos 38 dias apareceram, em Cc, granulomas bem configurados, ricos em eosinófilos, monócitos e macrófagos. Aos quarenta e 48 dias (Cc) de infecção ocorreu exacerbação da pancreatite. Em Cc, a pancreatite caracterizava-se por extensas destruições de lóbulos por granulomas, fibrose e infiltrados inflamatórios intersticiais, que nas fases mais avançadas eram ricos em plasmócitos e mastócitos, predominantemente do tipo mucoso. Os granulomas eram grandes, do tipo exsudativo-produtivos, acompanhados de lóbulos com atrofia acinar, ectasia de ductos intralobulares e hiperplasia de ductos residuais. As ilhotas pancreáticas mantiveram-se preservadas. Em ambos os animais, a pancreatite foi mais intensa aos noventa dias de infecção, estando presente em quase 100% dos animais. Este trabalho mostrou que a chegada de ovos ao pâncreas (Cc e Sw) e o início da pancreatite é bem mais precoce do que previamente tinha sido relatado na literatura (45 e cinqüenta dias de infecção). As alterações diferenciais mais proeminentes, nos dois modelos, foram o grande número de mastócitos, principalmente mucosos, em Cc, a presença de alterações hialinas em ductos e de material tipo amilóide em ácinos, em Sw. A patogênese da pancreatite, embora complexa, pareceu depender, principalmente, da obstrução de vênulas pancreáticas intralobulares por ovos e granulomas. A pancreatite esquistossomótica, nos dois modelos de animais, é um evento importante e freqüente, que merece estudos futuros sobre as repercussões na absorção intestinal. Alguns aspectos das lesões pancreáticas em camundongos podem ser vistos nas Figuras 34-36.

Figura 34 – Pancreatite granulomatosa esquistossomótica, em *Swiss Webster*, mostrando granuloma exsudativo-produtivo exuberante, com uma zona periférica constituída por um halo de plasmócitos

Figuras 35-36 – Proliferação, dilatação e alteração eosinofílica ductal, além de intenso infiltrado eosinofílico e plasmocitário interductal (Fig. 35) e área de atrofia acinar, com presença de material amilóide (Fig. 36) (hematoxilia-eosina)

Rins

Os vários tipos de glomerulonefrites observados em pacientes infectados com esquistossomose (Andrade & Rocha, 1979; Andrade & Van Marc, 1984; Ramos & Andrade, 1987) não têm sido descritos em animais infectados com *S. mansoni*, embora chimpanzés e coelhos sejam susceptíveis a lesões renais quando infectados com *S. japonicum* (Sadun et al., 1975; Von Lichtenberg, Sadun & Bruce, 1972). Coelhos infectados com *S. mansoni* mostraram alterações semelhantes, porém em intensidade menor (Andrade, Ramos & Reis, 1988). Lesões glomerulares discretas foram descritas em macacos *Cebus apellla* por De Brito et al. (1971) e em babuínos por Houba, Sturrock & Butterworth (1977). Houba (1979) fez uma revisão da esquistossomose renal experimental.

Depósitos glomerulares de imunocomplexos, lesões glomerulares ultra-estruturais e depósitos de imunoglobulinas foram descritos em camundongos infectados, mas os rins estavam freqüentemente normais à microscopia de campo claro (Andrade & Susin, 1974; De Rousse & Romero, 1974; Natali & Ciolli, 1976; Carneiro & Lopes, 1986; Water et al., 1988). Deposições de antígeno e de imunocomplexos foram exacerbadas por derivações porto-cava (Van Marck, Deelder & Gigase, 1977), mas eram detectadas também em infecções unissexuais (Lopes et al., 1981). El-Sherif & Befus (1988) encontraram IgA como isotipo de imunoglobulina predominante em glomérulos de camundongos infectados. Grave glomerulonefrite se desenvolveu em camundongos BXSB fêmeas expostos a dez cercárias, mas a maioria dos camundongos não apresentava granulomas em fígado e infecções unissexuais foram descartadas (Fujiwara, Makino & Watanabe, 1988). Hematúria foi documentada em alta proporção de camundongos infectados (Valadares & Pereira, 1983).

Hamsters infectados por *S. mansoni* desenvolveram grave amiloidose renal, que resultou em ascite acentuada e amiloidose hepática e esplênica, complicando a interpretação das lesões nesses órgãos (Cheever, 1965b).

Sistema Nervoso Central

Na infecção por *S. mansoni* em humanos, ovos do parasito podem atingir o cérebro, provocando alterações psiquiátricas e neurológicas (Andrade, 1986; Aloe et al., 1996). Aloe et al. (1996) também observaram, em camundongos, a presença de granulomas em várias regiões do sistema nervoso central e aumento dos níveis de fator de crescimento neural (*NGF = nerve growth factor*) na cortical, hipotálamo e talo cerebral, mas não no hipocampo. A infecção causou também hiperalgesia nas patas. Fiore et al. (1996), do mesmo grupo de pesquisa referido anteriormente, verificaram que camundongos CD-1 fêmeas, entre oito e 15 semanas de infecção, apresentavam comportamento exploratório acentuadamente alterado e associaram as irregularidades comportamentais a modificações nos níveis do fator de crescimento neural e de citocinas induzidas pelos granulomas. Porém, Silva, Oliveira & Andrade (2002) chamaram a atenção para a inadequação do modelo murino para estudos sobre a neuroesquistossomose. Observaram que mesmo camundongos com infecção grave, com ampla distribuição de ovos em vários órgãos, não mostravam envolvimento significativo do sistema nervoso central. Essas discordâncias experimentais entre autores podem decorrer de variações entre linhagens de camundongos, cepas de *S. mansoni*, tempo de infecção, intensidade do inóculo, características do estudo histopatológico do cérebro, entre outras. Deposição focal de ovos e encefalite granulomatosa associada com convulsões foram notadas em macacos *Ceropithecus aethiops aethiops* (Cheever & Duval, 1974).

A ESQUISTOSSOMOSE MANSONI NO CONTEXTO VASCULAR[3]

A variação da pressão do sistema venoso portal depende do fluxo sanguíneo e da resistência vascular que se opõe a este fluxo, sendo esta relação definida pela Lei de Ohm (Equação 1),

$$\Delta P = Q \times R \text{ (Equação 1),}$$

onde ΔP corresponde à variação da pressão portal, Q representa o fluxo sanguíneo e R, a resistência vascular. Fisiologicamente, alterações do fluxo sanguíneo induzem uma variação inversa da resistência a fim de manter a pressão constante.

O estabelecimento da hipertensão portal está relacionado ao aumento da resistência vascular em função de fibrose hepática e lesão do endotélio vascular. Como conseqüência da hipertensão há ativação do processo de angiogênese, havendo formação de vasos colaterais que reduzem, a curto prazo, a pressão portal (Bosch et al., 1992; Reynaert et al., 2002). Sabe-se que o óxido nítrico contribui para o processo da angiogênese, contudo a deleção das isoformas endoteliais e constitutivas da enzima óxido nítrico sintase (NOS) não impede o desenvolvimento dos vasos colaterais na hipertensão portal (Pizcueta et al., 1992; Iwakiri et al., 2002).

Schistosoma mansoni, na fase adulta, tem como hábitat o leito vascular mesentérico, onde o verme macho se fixa à intima através da sua ventosa ventral. Além disso, os vermes liberam antígenos solúveis vasoativos mesmo antes de haver a postura de ovos (Cheever, Lewis & Wynn, 1997). Estes dois fatores são fundamentais ao entendimento da lesão vascular portal desencadeada pelo verme macho na esquistossomose mansoni murina (Silva et al., 1998).

Ao longo da infecção por *S. mansoni*, os ovos esquistossomóticos carreados para o fígado induzem uma reação granulomatosa característica (Nash et al., 1982). Mais recentemente, resultados obtidos em modelos experimentais de infecção unissexual murina, portanto na ausência de ovos esquistossomóticos, sugerem que *S. mansoni* macho possui uma capacidade intrínseca de promover fibrose hepática e lesão endotelial na veia porta (Figura 37) (Silva et al., 1998; Jacobs et al., 1997a; Baki & Grimaud, 1985). A análise histopatológica do tecido revelou um espessamento da túnica íntima rico em fibras elásticas, compatível com a ocorrência de aumento da pressão intraluminal (Silva et al., 2003). As lesões endoteliais comprometem a produção de mediadores vasodilatadores tais como o óxido nítrico, favorecendo o aumento da resistência vascular.

O leito vascular mesentérico tem seu tônus controlado pela serotonina secretada pelas células enterocromafins (Sutter, 1990). Vários autores mostraram que na hipertensão portal não esquistossomótica (experimental e humana) há aumento da resistência da veia porta mediado pela ativação de receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT_{2A}, estabelecendo assim um papel fundamental para a 5-HT na fisiopatologia da hipertensão portal (Cummings, Grozman & Kaumann, 1986; Mosca et al., 1992; Moreno et al., 1996; Cawley et al., 1995; Islam et al., 2000).

Silva et al. (1998) observaram que a veia porta de camundongos infectados com *S. mansoni* macho possui uma hiperreatividade contrátil à 5-HT mediada por receptores 5-HT_{2A}, a exemplo do observado na hipertensão portal não esquistossomótica (Figura 38). Mais recentemente verificou-se que este perfil é mantido na infecção bissexual, reforçando a hipótese de que o verme adulto tem papel fundamental na disfunção vascular esquistossomótica (Silva et al., 2003).

---

[3] Autoria de Cláudia Lúcia Martins da Silva.

Figura 37 – (A) Aspecto das células endoteliais da veia porta de camundongo-controle (tricromática de Masson, x 310). (B) Espessamento da túnica íntima da veia porta de camundongo infectado com *Schistosoma mansoni*. As células endoteliais apresentam-se vacuolizadas (cabeça de seta) e agregadas (setas) (tricromática de Masson, x 310). (C) Tubérculo de vermes adultos em contato com células endoteliais (tricromática de Masson, x 200). (D) Placa intimal da veia porta de camundongo infectado com *Schistosoma mansoni* rica em fibras elásticas (Fucsina-Resorcina de Weigert, x 200). Sm, *Schistosoma mansoni* (Silva et al., 1998)

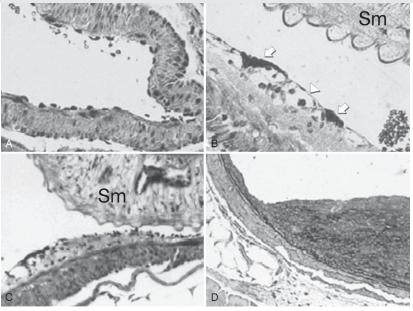
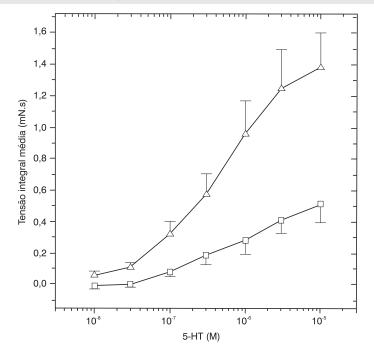



Figura 38 – Contração da veia porta de camundongos controles (□) e infectados com *Schistosoma mansoni* (△) em resposta a concentrações crescentes de serotonina (5-HT) (Silva et al., 1998)

Portanto, a fisiopatologia da hipertensão portal esquistossomótica parece estar relacionada à lesão vascular induzida por *S. mansoni* macho desencadeando uma hiperreatividade contrátil à 5-HT, que, associada ao granuloma hepático, aumenta a resistência ao fluxo sanguíneo portal.

PERSPECTIVAS

O estudo da patologia experimental da esquistossomose mansoni poderá ganhar um grande impulso mediante melhor aproveitamento de animais nocauteados ou transgênicos, em geral mal explorados do ponto de vista morfológico ou interdisciplinar pela literatura internacional. Além de esses animais serem utilizados de uma forma limitada, em geral seguindo a moda do momento, os dados deles obtidos são analisados de forma linear, reducionista e atomista e não relacional ou sistêmica, gerando uma confusão de dados não relacionáveis, desintegrados e não relacionados ao contexto (descontextualizados). Para migrar para uma forma diferente de pensar a relação parasito-hospedeiro (Lenzi & Vannier-Santos, 2005) é necessário o desenvolvimento de novas teorias, métodos e ferramentas, que possibilitem a geração de novas idéias, com conseqüente aprimoramento das teorias. A história da patologia experimental, até o momento, foi construída na contextualização do pensamento mecanicista, que está encontrando seus limites na fase pós-genômica da ciência, devendo ser rapidamente substituído pelo pensamento sistêmico.

Análise Sistêmica dos Dados e Modelagem Computacional da Esquistossomose Mansoni[4]

Na última década, os avanços nas ciências biológicas, expressos principalmente pelas técnicas de microscopia avançada, biologia molecular e proteômica, produziram milhares de dados em alta velocidade, que crescem em ritmo exponencial (Boukerche & Alves de Melo, 2006). A multiplicidade das informações adquiridas revelou a real complexidade dos fenômenos biológicos e as limitações das ciências reducionistas em lidar com eles. Simultaneamente, vários trabalhos em parasitologia mostraram que os fenômenos que envolvem a relação entre parasitos e hospedeiros se desenvolvem como sistemas complexos adaptativos (Lenzi & Romanha, 2003; Lenzi, Romanha & Pelajo Machado, 2004; Lenzi et al., 2006). Esses estudos refletiram uma migração da mentalidade reducionista para um pensamento sistêmico, em que a complexidade passou a ser adotada como um novo paradigma da ciência (Vasconcelos, 2003). Essa nova visão exigiu o desenvolvimento e aplicação de procedimentos técnicos, matemáticos e computacionais diferenciados daqueles utilizados até então. Nesse sentido, o estudo da patologia experimental, em vários modelos animais e com as tecnologias modernas da fase pós-genômica, está cada vez mais requerendo a aplicação de metodologias de análise integral, que possibilitam o estudo das relações entre os elementos estruturais envolvidos no processo patológico. Por exemplo, como analisar o granuloma em sua complexidade, visto que sua composição apresenta'vários tipos de células' (monócitos/macrófagos, células epitelióides, células gigantes, eosinófilos, neutrófilos, mastócitos, linfócitos B, T e NK), fibroblastos, miofibroblastos), 'componentes da matriz extracelular' (colágenos I e III, vários tipos de proteoglicanos, fibronectina, tenascina, vitronectina, laminina e outros), 'moléculas de adesão' (integrinas, selectinas, superfamília das imunoglobulinas, caderinas, ocludinas, conexinas e outras), 'fatores de crescimento e seus receptores' (fator estimulador de colônias, eritropoetina, leptina, fator transformador de crescimento

[4] Colaboraram Rita Maria Zorzenon dos Santos e Hallan Souza e Silva.

beta, interferon-gama e outros), 'várias interleucinas e quimiocinas, fatores de transcrição, neuropeptídeos' etc.? Um procedimento que tenderá a ser utilizado de modo crescente será a 'microdissecção a laser', com posterior análise, por técnicas de biologia molecular (ex.: 'microarranjo gênico', 'Sage – s*erial analysis of gene expression*') e de proteoma (ex.: interactoma) do material microdissecado, visando definir redes de interação entre os diversos componentes. Esses procedimentos possibilitarão definir, por exemplo com proteínas, quais se portam como eixos ou nós centrais na rede de interactoma (*hub proteins*). Os dados poderão também ser tratados por técnicas computacionais como 'autômatos celulares' e 'redes neurais artificiais'. Os 'autômatos celulares' são utilizados como modelos matemáticos simples para se investigar a auto-organização em mecânica estatística. Consistem de uma seqüência de sítios lineares com valores zero (0) ou um (1), com cada sítio evoluindo deterministicamente em etapas temporais individualizadas de acordo com regras definidas, envolvendo os valores de seus vizinhos mais próximos. Partindo de configurações iniciais simples, os autômatos celulares tendem a estados homogêneos ou geram padrões de autossimilaridade tipo fractal (Wolfran, 1994). As 'redes neurais', por sua vez, compreendem um método de computação que é muito diferente de técnicas baseadas em regras em que há controle rigoroso no cálculo dos dados introduzidos (*input)* e exportados (*output*). Conceitualmente, as redes neurais usam 'influência' em vez de controle. Consistem de um grande número de unidades computacionais independentes, que influenciam, mas não controlam a computação de cada uma delas. Não são programadas no sentido habitual, mas sofrem a influência dos dados, num processo de treinamento, visando inter-relacionar padrões de resposta (Lund et al., 2005). As redes neurais tratam problemas de modo semelhante à 'Inteligência Artificial (IA)', exceto que a IA usa algoritmos computacionais tradicionais para resolver problemas, enquanto as redes neurais empregam, como o nome diz, redes neurais como arquitetura computacional para resolver problemas (Wikipedia, 2006). A 'geometria fractal' poderá também ser uma ferramenta capaz de quantificar de modo consistente o grau de complexidade de um dado conjunto, mensurar contornos irregulares, como nos granulomas, e avaliar a intensidade da fibrose tecidual (Mandelbrot, 1998; Dioguardi et al., 1999, 2003; Moal et al., 2003; Lenzi et al., 2006).

A vantagem dos 'sistemas computacionais' está no fato de serem capazes de descrever os fenômenos biológicos de forma gráfica e de permitir simulações. A 'simulação de sistemas biológicos' em parasitologia é de grande importância para o ensino superior e para a verificação paraexperimental sem a utilização de animais e sem a influência de variáveis sobre o sistema em estudo ('biologia em silico'). Além disso, a utilização de animais de laboratório requer cada vez mais a aprovação, de acordo com a sua relevância, de entidades organizadas da sociedade civil e do governo federal.

Novas Formas de Ver o Fígado: órgão fundamental na esquistossomose mansoni

O fígado e o intestino são os dois órgãos tradicionalmente mais considerados na patologia da esquistossomose mansoni. E, como foi visto no texto (subitem Influência do Ambiente ou do Órgão na Modulação do Granuloma), o granuloma hepático tem certas particularidades não observadas em outros órgãos, sendo o mais sujeito ao processo de modulação. Essas observações devem provocar uma questão fundamental: o que o fígado tem de especial para exibir certas particularidades? Aqui dois aspectos novos merecem destaque: o fígado como órgão imunoprivilegiado que favorece a indução de tolerância periférica; o fígado como um grande compartimento neuroendócrino.

Fígado como Órgão Imunoprivilegiado

De fato, o fígado é um órgão imunologicamente distinto, que contém células próprias devotadas à resposta imunitária inata e adaptativa e funciona como um sítio de respostas imunoinflamatórias, bem como um sítio de indução de tolerância (Weiller-Normann & Rehermann, 2004; Li et al., 2004; Knolle & Gerken, 2000). Segundo Crispe et al. (2006), o mecanismo fundamental indutor de tolerância hepática decorre, provavelmente, da contínua exposição dos diversos tipos de células hepáticas à endotoxina derivada de bactérias intestinais. O mecanismo de tolerância pode depender da indução de células T reguladoras (CD-25+, gene da família de receptor de TNF induzido por glicocorticóide – ou Gitr = *glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor family related gene* –, CTLA-4 e CD 103). As células endoteliais dos sinusóides também participam do fenômeno da tolerância T alorreativa, por meio da apresentação indireta de antígenos induzidos por injeção venosa portal de esplenócitos doadores (Tokita et al., 2005). Antígenos injetados diretamente na veia porta induzem tolerância, a qual pode ser prevenida por desvios porto-cava da circulação, evadindo o território hepático (Qian et al., 1985). Segundo Li et al. (2004), a tolerância hepática opera em situação de ingresso de grande quantidade de antígeno por via oral. É importante destacar que, em esquistossomose mansoni, os vermes vivem dentro de veias mesentéricas, liberando ovos e seus produtos diretamente para a veia porta e seus ramos intra-hepáticos, como se fosse uma injeção intraportal. Células de Kupffer, células dendríticas hepáticas, células endoteliais dos sinusóides e hepatócitos favorecem topograficamente o contato com linfócitos T circulantes, participando na indução da tolerância hepática (Bertolino, McCaughan & Bowen, 2002). O fígado pode remover células apoptóticas ou não apoptóticas da circulação, exceto células T CD8+ ativadas, podendo, contudo, induzir apoptose, por diversos mecanismos, nessas células linfóides (Park et al., 2002). Lectina ligante de manan (polissacarídeos de planta que são polímeros de manose, MBL = *mannan binding lectin*) pode ligar proteínas nocivas na circulação e atuar em conjunto com receptor de manose em sinusóide hepático, removendo tais agentes (Saevarsdottir, Vikingsdottir & Valdimarsson, 2004). Linfócitos associados ao fígado, expressando NK1.1, são também essenciais na indução da imunotolerância oral no modelo murino (Trop et al., 2003). Todas as observações anteriores apontam para a ocorrência de uma modulação negativa dos granulomas em fígado, mais intensa que em outros órgãos, considerando as características do fígado como um órgão imunoprivilegiado. Esses aspectos deverão ser levados em consideração nos futuros estudos sobre a patologia hepática na esquistossomose, principalmente em relação à intelecção da imunomodulação do granuloma em fígado.

Fígado como Compartimento Neuroendócrino

Segundo Roskams, Libbrecht & Desmet (2003) e Roskams et al. (2004), o fígado consiste de dois compartimentos de células epiteliais maduras (hepatócitos e células epiteliais ductais) e de um compartimento de células epiteliais progenitoras. As células hepáticas progenitoras, bem como as células estrelares hepáticas apresentam características neuroendócrinas. As células progenitoras expressam cromogranina-A, molécula de adesão neural, peptídeo relacionado ao hormônio paratireóide, proteína S-100, neurotrofinas e receptores de neurotrofinas (Roskams et al., 2004). Por sua vez, as células hepáticas estrelares expressam sinaptofisina, proteína acídica fibrilar, molécula de adesão neural, nestin, neurotrofinas e seus receptores (Roskams et al., 2004). Esse fenótipo celular, segundo Roskams et al.

(2004), sugere que esses tipos celulares formam o compartimento neuroendócrino do fígado e atuam como células efetoras do reparo e regeneração, operando sob controle do sistema nervoso central. A população de células epiteliais primitivas é rotulada de 'células ovais', as quais são relacionadas aos dúctulos biliares terminais e aos canais de Hering, que representam os ramos terminais da árvore biliar. Os canais de Hering conectam os canalículos biliares inter-hepatocitários com os ductos biliares portais (Grisham, 1980; Germain, Blouin & Marceau, 1988; Germain et al., 1988; Lemire, Shiojiri & Fausto, 1991; Lenzi R et al., 1992; Paku et al., 2001). As células ovais expressam marcadores fenotípicos de hepatócitos imaturos (a-fetoproteína) e de células de ductos biliares (citoqueratinas 7, 8, 18, 19), constituindo uma população heterogênea, com capacidade, ao menos de parte de algumas células, de se diferenciar para hepatócitos, células de ductos biliares, epitélio intestinal, podendo também dar origem a carcinoma hepatocelular e colangiocelular (Germain, Goyette & Marceau, 1985; Alison et al., 2001; Roskams et al., 2004). Células-tronco derivadas da medula óssea podem também dar origem a hepatócitos, células ovais e células de ductos biliares (Petersen et al., 1999; Alison et al., 2000; Theise et al., 2000; Korbling et al., 2002). Ao menos em alguns modelos animais, o reparo em fígado por células derivadas da medula óssea ocorre por fusão (Vassilopoulos, Wang & Russel, 2003; Wang et al., 2003). Esses novos aspectos sobre a participação de células-tronco em fígado merecem estudos adicionais, desde que a fusão de células pode induzir instabilidade genômica e perda de cromossomos, potenciando transformação maligna (Holden, 2003). O peptídeo relacionado ao hormônio da paratireóide (PTHrP = *parahyroid hormone-related peptide*) pode atuar como um possível fator de crescimento autócrino para as células progenitoras (Roskams et al., 2004). O hormônio PTHrP induz a transformação de linhagens celulares de fibroblastos dependentes de fator de crescimento epitelial (EGF = *epithelial growth factor*), aumentando significativamente a produção de fibronectina, propriedade que comparte com TGF-b. Portanto, é possível que PTHrP participe na fibrogênese que acompanha a reação ductular, atuando de forma parácrina nas células produtoras de matriz (Roskams & Desmet, 1997).

As células estrelares hepáticas co-proliferam e interagem com as células progenitoras (Dabeva & Shafritz, 1993) e apresentam contatos muito próximos com terminações nervosas hepáticas (Ueno et al., 1997; Akiyoshi & Terada, 1998). Complexos funcionais de miofibroblastos, mastócitos e nervos colinérgicos terminais parecem participar no desenvolvimento da cirrose (Akiyoshi & Terada, 1998). Células progenitoras hepáticas humanas expressam receptor muscarínico M3 (receptor para acetilcolina), que são detectados em septos e em dúctulos interlobulares (Roskams et al., 2004). Até o momento, os nervos hepáticos são a única fonte de acetilcolina no fígado, pois somente eles contêm a enzima colina acetiltransferase necessária para a produção de acetilcolina e o transportador vesicular para empacotamento de acetilcolina (Xue et al., 2000). Em fígados normais e após hepatectomia, cada célula progenitora está circundada por um número normal de hepatócitos, que anulam a ligação de acetilcolina com os receptores M3 na célula progenitora hepática por meio da produção e da secreção de colinesterase hepatocitária. Como conseqüência, o compartimento de células hepáticas progenitoras não é ativado nessas condições. Por outro lado, quando ocorrem perda e prejuízo da proliferação de hepatócitos, como sucede na maioria das doenças hepáticas humanas, a presença de atividade de colinesterase diminui proporcionalmente à localização e severidade da perda de hepatócitos. Isso possibilita à acetilcolina exercer seus efeitos tróficos nas células progenitoras hepáticas até a massa hepatocitária ser novamente restaurada. Um mecanismo similar parece também estar presente no sistema hematopoético (Roskams et al., 2004).

O sistema simpático também interfere nas células progenitoras. A sua inibição via antagonismo a_{1}-adrenérgico com prazosina ou via simpatectomia química com 6-hidroxidopamina promove a ativação de células progenitoras e reduz as lesões hepáticas num modelo murino de ativação dessas células. Também ficou demonstrado que as células estrelares hepáticas produzem e reagem à norepinefrina. (Oben et al., 2003).

Em conclusão, as células progenitoras hepáticas e as células estrelares hepáticas constituem um compartimento com características neuroendócrinas no fígado, que é influenciado tanto pelo sistema nervoso simpático como pelo parassimpático. Portanto, 'interpretar a patologia hepática esquistossomótica, assim como de outros órgãos, apenas com conceitos imunológicos tradicionais determina uma grande limitação da compreensão dos fenômenos biológicos por estreitamento de horizontes dentro da complexidade relacional da inteface parasito-hospedeiro'.

Adipocinas ou Adipocitocinas

Cada vez mais crescem os trabalhos que relacionam os sistemas hematopoético, imunitário (especialmente linfonodos e omento) e o fígado com o tecido adiposo, mediante ação de adipocinas ou adipocitocinas (Pond, 1999, 2003; Fantuzzi, 2005; Tilg & Moschen, 2006). Essas adipocinas influem na evolução da doença gordurosa não alcoólica (Nafld = *nonalcoholic fatty liver disease*), da esteato-hepatite não alcoólica (Nash = *nonalcoholic steatohepatitis*) (Baranova et al., 2006), da fibrose hepática (Ding et al., 2005; Marra et al., 2005; Otte et al., 2004) e do granuloma esquistossomótico (Lenzi et al., 2006). Essas adipocinas podem atuar de modo autócrino ou parácrino e compreendem vários tipos de moléculas: leptina, adiponectina, adipsina, resistina, apelina, visfatina e outras (Kershaw & Flier, 2004). A sua função como mediadores da inflamação e das respostas imunitárias está ficando cada vez mais evidente (Lago et al., 2007a, 2007b). Trata-se, portanto, de um 'novo campo que deverá ser investigado na patologia hepática esquistossomótica e no granuloma'.

REFERÊNCIAS

ABBASSY, A. F. et al. A preliminary report on the materno-foetal immunological changes in schistosomiasis. I. Immunoglobulin changes. *Egyptian Journal of Bilharziasis*, 5: 71-76, 1978.

ABDALLAHI, O. M. et al. Visualization of oxygen radical production in mouse liver in response to infection with *Schistosoma mansoni.* Liver, 19(6): 495-500, 1999.

ABDEL-RAHIM, A. Y. Parasitic infection and hepatic neoplasia. *Digestive Diseases*, 19: 288-291, 2001.

ADAMS, D. O. The biology of the granuloma. In: IOACHIM, H. L. (Ed.) *Pathology of Granulomas*. New York: Raven Press, 1983.

AKIYAMA, M. et al. TNFa induces rapid activation and nuclear translocation of telomerase in human lymphocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications,* 316(2): 528-532, 2004.

AKIYOSHI, H. & TERADA, T. Mast cell, myufibroblast and nerve terminal complexes in carbon tetrachloride-induced cirrhotic rat livers. *Journal of Hepatology*, 29: 112-119, 1998.

ALISON, M. R. et al. Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature*, 406: 257, 2000.

ALISON, M. R. et al. Update on hepatic stem cells. *Liver*, 21: 367-373, 2001.

ALMEIDA, M. A. C. & ANDRADE, Z. A. Effects of chemotherapy on experimental pulmonary schistosomiasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 32: 1.049-1.054, 1983.

ALOE, L. et al. Chronic parasite infection in mice induces brain granulomas and differentially alters brain nerve growth factor levels and thermal responses in paws. *Acta Neuropathologica (Berl)*, 92: 300-305, 1996.

ALVES, C. A. P. et al. Hepatic artery hyperthrophy and sinusoidal hypertension in advanced schistosomiasis. *Gastroenterology*, 72: 126-128, 1977.

AMIRI, P. et al. Tumor necrosis factor a restores granulomas and induces parasite egg-laying in schistosome-infected SCID mice. *Nature*, 356: 604-607, 1992.

ANDERSON, L. A. & CHEEVER, A. W. Comparison of geographical strains of *Schistosoma mansoni* in the mouse. *Bulletin of the World Health Organization*, 46: 233-242, 1972.

ANDRADE, Z. A. Hepatic schistosomiasis. Morphologic aspects. In: POPPER, H. & SCHAFFNER, F. (Eds.) *Progress in Liver Diseases*. New York: Grune and Stratton, 1965. v. II

ANDRADE, Z. A. Neuroesquistossomose. *Arquivos de Neuro-psiquiatria*, 44: 275-279, 1986.

ANDRADE, Z. A. Pathogenesis of pipe-stem fibrosis of the liver (Experimental observation on murine schistosomiasis). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82: 325-334, 1987.

ANDRADE, Z. A. Morphological features of collagen degradation in advanced hepatic schistosomiasis of man. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87, supl. IV: 128-138, 1992.

ANDRADE, Z. A. Schistosomal hepatopathy. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99, supl. I: 51-57, 2004.

ANDRADE, Z. A. & CHEEVER, A. W. Alterations of the intrahepatic vasculature in hepatosplenic schistosomiasis mansoni. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 20: 425-432, 1971.

ANDRADE, Z. A. & CHEEVER, A. W. Characterization of the murine model of schistosomal hepatic periportal fibrosis ("Pipestem" fibrosis). *International Journal of Experimental Pathology* , 74: 195-202, 1993.

ANDRADE, Z. A. & DE AZEVEDO, T. M. A contribution to the study of acute schistosomiasis (an experimental trial). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82: 311-317, 1987.

ANDRADE, Z. A. & GRIMAUD, J. A. Fibrous resorption in schistosomal granuloma. *Marker Proteins in Inflammation*, 3: 461-472, 1986.

ANDRADE, Z. A. & REIS, M. G. Role of eosinophils in the destruction of schistosomula of *Schistosoma mansoni in vivo* (preliminary report). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 79: 371-373, 1984.

ANDRADE, Z. A. & ROCHA, H. Schistosomal glomerulopathy. *Kidney International*, 16: 23-29, 1979.

ANDRADE, Z. A. & SUSIN, M. Renal changes in mice infected with *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 23: 400-403, 1974.

ANDRADE, Z. A. & VAN MARC, E. Schistosomal glomerular diseasew (a review). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 79: 499-506, 1984.

ANDRADE, Z. A. & WARREN, K. S. Mild prolonged schistosomiasis in mice: alterations in host response with time and the development of portal fibrosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 58: 53-57, 1964.

ANDRADE, Z. A.; RAMOS, E. & REIS, M. G. A patologia da esquistossomose no coelho. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 83: 323-332, 1988.

ANDRADE, Z. A.; SILVA, L. M. & SOUZA, M. M. An experimental approach to the pathogenesis of 'pipestem' fibrosis (Symmers' fibrosis of the liver). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92: 699-706, 1997.

ANDRADE, Z. A. et al. Schistosomiasis mansoni and viral B hepatitis in woodchucks. *Journal of Hepatology*, 34: 134-139, 2001.

ANGELI, V. et al. *Schistosoma mansoni* induces the synthesis of IL-6 in pulmonary microvascular endothelial cells: role of IL-6 in the control of lung eosinophilia during infection. *European Journal of Immunology*, 31: 2.751-2.761, 2001.

ARESE, P. & SCHWARZER, E. Malarial pigment (haemozoin): a very active 'inert' substance. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 91: 501-516, 1997.

ASCH, H. L. & DRESDEN, M. H. Acidic thiol proteinase activity of *Schistosoma mansoni* egg-extracts. *The Journal of Parasitology*, 65: 543-549, 1979.

ASHBY, W. R. *Uma Introdução à Cibernética*. São Paulo: Perspectiva, 1970.

ATAMMA, H. & GINSBURG, H. Heme degradation in the presence of glutathione. A proposed mechanism to account for the high levels of non-heme iron found in the membranes of hemoglobinopathic red blood cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 270: 24.876-24.883, 1995.

ATLAN, H. *Tudo, Não, Talvez: educação e verdade*. Lisboa: Instituto Piaget, 1991.

ATTALLAH, A. M. et al. Placental and oral delivery of *Schistosoma mansoni* antigen from infected mothers to their newborn and children. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 68: 647-651, 2003.

BAKI, C. A. & GRIMAUD, J. A. Unisexual murine schistosomiasis. *Experientia*, 41: 1.423-1.426, 1985.

BALKWILL, F. & MANTOVANI, A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *The Lancet*, 357: 359-545, 2001.

BAPTISTA, A. P. & ANDRADE, Z. A. Angiogenesis and schistosomal granuloma formation. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100: 183-185, 2005.

BARANOVA, A. et al. Gene expression of leptin, resistin, and adiponectin in the white adipose tissue of obese patients with non-alcoholic Fatty liver diseas and insulin resistance. *Obesity Surgery*, 16: 1.118-1.125, 2006.

BARRACCO, M. & MENEZES, H. Mecanismos celulares de defesa em insetos. *Ciência e Cultura*, 37: 237-250, 1985.

BARRETO, A. C. *Observações em Torno da Migração, Acasalamento e Postura de* Schistosoma mansoni, 1961. Tese de Doutorado, Salvador: Departamento da Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia.

BATTALER, E. & BRENNER, D. Liver fibrosis. *The Journal of Clinical Investigation*, 115: 209-218, 2005.

BEITZINGER, M. et al. Regulation of telomerase activity by the p53 family member p73. *Oncogene*, 25: 813-826, 2006.

BEKAERT, S.; DERRADJI, H. & BAATOUT, S. Telomere biology in mammalian germ cells and during development. *Developmental Biology*, 274: 15-30, 2004.

BELTRÃO, A. L. *Sensibilização Pré-natal e Neo-natal na Esquistossomose Experimental do Camundongo*, 1979. Dissertação de Mestrado, Salvador: Curso de Pós-Graduação em Patologia, Universidade Federal da Bahia.

BERTOLINO, P.; MCCAUGHAN, W. & BOWEN, D. G. Role of primary intrahepatic T-cell activation in the "liver tolerance effect". *Immunology and Cell Biology*, 80: 84-92, 2002.

BEZERRA, M. et al. The life cycle of *Schistosoma mansoni* under germ free conditions. *The Journal of Parasitology*, 71: 519-520, 1985.

BINA, J. C. & PRATA, A. *A Evolução Natural da Esquistossomose Mansônica em uma Área Endêmica: aspectos peculiares da infecção por* Schistosoma mansoni. Salvador: Centro Editorial e Didático da UFBA, 1984.

BLACKBURN, E. H. Telomeres and cell fates. *Nature*, 408: 53-56, 2000.

BLACKBURN, E. H. Switching and signaling at the telomere. Review. *Cell*, 106: 661-673, 2001.

BLACKBURN, E. H. Telomerase and cancer. *Molecular Cancer Research*, 3(9): 477-482, 2005a.

BLACKBURN, E. H. Telomeres and telomerase: their mechanisms of action and the effects of altering their functions. *Febs Letters*, 579: 859-862, 2005b.

BLOCH, E. H. The termination of hepatic arterioles and the functional unit of the liver as determined by microscopy of the living organ. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 170: 78-87, 1970.

BLOCK, E. H. *In vivo* microscopy of schistosomiasis. II. The migration of *Schistosoma mansoni* in the lung, liverr and intestine. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 29: 62-70, 1980.

BLOCH, E. H.; WAHAB, M. F. & WARREN, K. *In vivo* microscopic observations of the pathogeneis and pathophysiology of the hepatosplenic schistosomiasis in the mouse liver. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 21: 546-557, 1972.

BOGERS, J. et al. *Schistosoma mansoni* infection causing diffuse enteric inflammation and damage of the enteric nervous system in the mouse small intestine. *Neurogastroenterology and Motility*, 12: 431-440, 2000.

BOGITSH, B. J. *Schistosoma mansoni*: uptake of exogenous hemeproteins by schistosomules grown *in vitro*. *Experimental Parasitology*, 45: 247-254, 1978.

BOGITSH, B. J. & CARTER, O. S. Developmental studies on the digestive tract of schsitosomules (*Schistosoma mansoni*) growth in vitro.I. Ultrastructure. *Transactions of the American Microscopical Society*, 96: 219-227, 1977.

BOGLIOLO, L. Segunda contribuição ao conhecimento do quadro anatômico do fígado na esquistossomose mansônica hépato-esplênica. *Hospital (Rio)*, 47: 507-542, 1955.

BOGLIOLO, L. Anatomical picture of the liver in hepatosplenic schistosomiasis mansoni. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 51: 1-14, 1957.

BORDAS, J. M. et al. Effects of bolus somatostatin in preventing pancreatitis after endoscopic pancreatography: results of a randomized study. *Gastrointestinal Endoscopy*, 47: 230-234, 1988.

BOROJEVIC, R. Experimental murine schistosomiasis mansoni: establishment of the chronic phase of the disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87, supl. IV: 171-174, 1992.

BOROJEVIC, R.; SANTORO, F. & GRIMAUD, J. A. Congenital modification of host response in murine schistosomiasis mansoni. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 19: 109-112, 1977.

BOROJEVIC, R.; STOCKER, S. & GRIMAUD, J. A. Hepatic eosinophil granulocytopoiesis in murine experimental schistosomiasis mansoni. *British Journal of Experimental Pathology*, 62: 480-489, 1981.

BOROS, D. L.; PELLEY, R. P. & WARREN, K. S. Spontaneous modulation of granulomatous hypersensitivity in schistosomiasis mansoni. *The Journal of Immunology*, 114: 1.437-1.441, 1975.

BOSCH, J. et al. Pathophysiology of portal hypertension. *Gastroenterology Clinics of North America*, 21: 1-14, 1992.

BOUKERCHE, A. & ALVES DE MELO, A. C. M. *Computational molecular biology.* In: ZOMAIA, A. Y. *Parallel Computing for Bioinformatics and Computational Biology: models, enabling technologies and case study*. New Jersey: Wiley-InterScience, 2006.

BREMOND, P. et al. Experimental host-induced selections in *Schistosoma mansoni* strains from Guadaloupe and comparison with natural observations. *Heredity*, 70: 33-37, 1993.

BRENER, Z. Observações sobre a infecção do camundongo pelo *Schistosoma mansoni*. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 8: 565-575, 1956.

BRINDLEY, P. J. et al. Proteolytic degradation of host hemoglobin by schistosomes. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 89: 1-9, 1997.

BRINKWORTH, R. I. et al. Hemoglobin-degrading, aspartic proteases of blood-feeding parasites: substrate specificity revealed by homology models. *The Journal of Biological Chemistry*, 276: 38.844-38.851, 2001.

BRUIJNING, C. F. & DE VRIES, H. Transfer of *Schistosoma mansoni* antibodies from mother to fetal and newborn mice. *Acta Leiden*, 46: 31-51, 1987.

BRUNET, L. R. et al. Interleukin 5 (IL-5) is not required for expression of a TH2 response or host resistance mechanisms during murine schistosomiasis mansoni but does play a role in development of IL-4-producing non-T, non-B cells. *Infection and Immunity*, 67: 3.014-3.018, 1999.

BUTTERWORTH, A. E. et al. Damage to schistosomula of *Schistosoma mansoni* induced directly by eosinophil major basic protein. *The Journal of Immunology*, 122: 221-229, 1979.

BYRAM, J. E.; IMOHIOSEN, E. A. & VON LICHTENBERG, F. Tissue eosinophil proliferation and maturation in *Schistosoma*-infected mice and hamsters. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 27: 267-270, 1978.

CAPRON, A. et al. Contribution à l'étude expérimnetale de la bilharziose à *Schistosoma haematobium*. *Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé*, 32: 755-778, 1965.

CARLIER, Y. et al. Evaluation of circulating antigens by a sandwich radioimmunoassay, and of antibodies and immune complexes, in *Schistosoma mansoni*-infected African partuyrients and their newborn children. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 29: 74-81, 1980.

CARNEIRO, C. R. & LOPES, J. D. Surface antigen detected by *Schistosoma mansoni* monoclonal antibody in worm extracts and kidney deposits of infected mice and hamster. *Infection and Immunity*, 52: 230-235, 1986.

CARNEIRO-SANTOS, P. et al. Apoptosis: a mechanism of immunoregulation during human Schistosomiasis mansoni. *Parasite Immunology*, 22: 267-277, 2000.

CARVALHO, E. M. & ANDRADE, Z. A. Imunopatologia da Esquistossomose. In: COURA, J. R. (Ed.) *Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. v. I

CAVALCANTI, A.; BARBOSA JR., A. A. & ANDRADE, Z. A. Contribution to the study of collagen degradation. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 38: 329-336, 2002.

CAWLEY, T. et al. Effects of portal hypertension on responsiveness of rat mesenteric artery and aorta. *British Journal of Pharmacology*, 114: 791-796, 1995.

CHAREE, A. A. Cancer of the body and tail of the pancreas with Bilharziasis. *The Journal of the Egyptian Medical Association*, 24: 311, 1941.

CHATTERJEE, S. & VAN MARK, E. Can somatostatin control acute bleeding from esophageal varices in *Schistosoma mansoni* patients? *BMC Infectious Diseases*, 4: 58, 2004.

CHATTERJEE, S. et al. Circulating levels of the neuropeptide hormone somatostatin may determine hepatic fibrosis in *Schistosoma mansoni* infections. *Acta Tropica*, 90: 191-203, 2004.

CHATTERJEE, S. et al. The therapeutic effect of the neuropeptide hormone somatostatin on *Schistosma mansoni* caused liver fibrosis. *BMC Infectious Diseases*, 5: 45, 2005.

CHEEVER, A. W. A comparative study of *Schistosoma mansoni* infections in mice, gerbils, multimammate rats and hamsters. I. The relation of portal hypertension to size of hepatic granulomas. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 14: 211-226, 1965a.

CHEEVER, A. W. A comparative study of *Schistosoma mansoni* infections in mice, gerbils, multimammate rats and hamsters. II. Qualitative pathological differences. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 14: 227-238, 1965b.

CHEEVER, A. W. Quantitative comparison of the intensity of *Schistosoma mansoni* infection in man and experimental animals. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 63: 781-795, 1969.

CHEEVER, A. W. & ANDERSON, L. A. Rate of destruction of *Schistosoma mansoni* eggs in tissues of mice. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 20: 62-68, 1971.

CHEEVER, A. W. & DUVAL, R. H. Single and repeated infections of grivet monkeys with *Schistosoma mansoni*: parasitological and pathological observations over a 31-month period. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 23: 884-894, 1974.

CHEEVER, A. W. & WELLER, T. H. Observations on the growth and nutritional requirements of *Schistosoma mansoni in vitro*. *Amercian Journal of Hygiene*, 68: 322-339, 1958.

CHEEVER, A. W.; LEWIS, F. A. & WYNN, T. A. *Schistosoma mansoni*: unisexual infections sensitize mice for granuloma formation around intravenously injected eggs. *Parasitology Research*, 83: 57-59, 1997.

CHEEVER, A. W.; POINDEXTER, R. W. & WYNN, T. A. Egg laying is delayed but worm fecundity is normal in SCID mice infected with *Schistosoma japonicum* and *S. manson*i with or without recombinant tumor necrosis alpha treatment. *Infection and Immunity*, 67: 2.201-2.208, 1999.

CHEEVER, A. W. et al. Immunopathology of *Schistosoma japonicum* and *S. Mansoni* infections in B cell depleted mice. *Parasite Immunology*, 7: 399-413, 1985.

CHEEVER, A. W. et al. Variation of hepatic fibrosis and granuloma size among mouse strains with *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 37: 85-97, 1987.

CHEEVER, A. W. et al. Treatment with anti-IL-2 antibodies reduces hepatic pathology and eosinophilia in *Schistosoma mansoni*-infected mice while selectively inhibiting T cell IL-5 production. *The Journal of Immunology*, 148: 3.244-3.248, 1992.

CHEEVER, A. W. et al. Biology and pathology of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum* infections in several strains of nude mice. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 48: 496-503, 1993.

CHEEVER, A. W. et al. Kinetics of egg production and egg excretion by *Schistosoma mansoni* and *S. japonicum* in mice infected with a single pair of worm. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 50: 281-295, 1994a.

CHEEVER, A. W. et al. Anti-interleukin-4 treatment of *Schistosoma mansoni*-infected mice inhibits development of T cells and non-B, non-T cells expressing Th2 cytokines while decreasing egg-induced hepatic fibrosis. *The Journal of Immunology*, 153: 753-759, 1994b.

CHEEVER, A. W. et al. Role of cytokines in the formation and downregulation of hepatic circumoval granulomas and hepatic fibrosis in *Schistosoma mansoni*-infected mice. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93, supl. I: 25-32, 1998.

CHEEVER, A. W. et al. Experimental models of *Schistosoma mansoni* infection. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97:917-940, 2002.

CHEN, M. M.; SHI, L. & SULLIVAN JR., D. J. *Haemoproteus* and *Schistosoma* synthesize heme polymers similar to *Plasmodium* hemozoin and B-hematin. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 113: 1-8, 2001.

CHENSUE, S. W. & BOROS, D. L. Modulation of granulomatous hypersesitivity. I. Characterization of T lymphocytes involved in the adoptive suppression of granuloma formation in *Schistosoma mansoni*-infected mice. *The Journal of Immunology*, 123: 1.409-1.414, 1979.

CHEVILLARD, C. et al. IFN-^{3} polymorphisms (IFN-^{3} + 2109 and IFN-^{3} + 3810) are associated with severe hepatic fibrosis in human hepatic schistosomiasis (*Schistosoma mansoni*). *The Journal of Immunology*, 171: 5.596-5.601, 2003.

CHIARINI, L. B. et al. Long-term culture of cholangiocytes from liver fibro-granulomatous lesions. *BMC Gastroenterology*, 3: 6-13, 2006.

CHIKUNGUWO, S. M. et al. The cell-mediated response to schistosmal antigens at the clonal level. *The Journal of Immunology*, 147: 3.921-3.925, 1991.

COELHO, P. M. et al. *Schistosoma mansoni*: experimental bovine schistosomiasis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 24: 374-377, 1982.

COLLEY, D. G. Schistosomal egg antigen-induced lymphocyte blastogenesis in experimental murine *Schistosoma mansoni* infection. *The Journal of Immunology*, 107: 1.477-1.480, 1971.

COLLEY, D. G.; LEWIS, F. A. & TODD, C. W. Adoptive suppression of granuloma formation by T lymphocytes and by lymphoid cells sensitive to cyclophosphamide. *Cellular Immunology*, 46: 192-200, 1979.

CONNELLI, R. & BACK, A. Mathematics and Tensegrity. *American Scientist*, 86: 142-151, 1998.

COOK, G. A. et al. Lymphokine expression in granulomas of *Schistosoma mansoni*-infected mice. *Cellular Immunology*, 152: 49-58, 1993.

COSTA, M. F. F. L. & KATZ, N. Comparative study of *Schistosoma mansoni* strains isolated from patients with toxemic or intestinal forms of schistosomiasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 31: 499-504, 1982.

COSTA, M. F. F. L.; ROCHE, R. S. & KATZ, N. Comparative study of *Schistosoma mansoni* isolated from patients with hepatosplenic and intestinal forms of schistosomiasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 33: 918-923, 1984.

COSTA-SILVA, M. et al. Natural Schistosoma infection in *Nectomys squamipes*: histopathological and morphometric analysis in comparison to experimentally infected *N. squamipes* and C3H/He mice. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97, supl. I: 129-142, 2002.

COTTA-PEREIRA, G. et al. On the presence of elastic microfibrils in liver granuloma of murine schistosomiasis mansoni. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 86, supl. III: 129-130, 1991.

COURA, J. R. *Esquistossomose Pulmonar*. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1979.

COUTO, J. L. et al. Structural changes in the jejunal mucosa of mice infected with *Schsitosoma mansoni,* fed low or high ptotein diets. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 35: 601-607, 2002.

CRISPE, I. N. et al. Cellular and molecular mechanisms of liver tolerance. *Immunological Reviews*, 213: 101-118, 2006.

CUMMINGS, S. A.; GROZMAN, R. J. & KAUMANN, A. J. Hypersensitivity of mesenteric veins to 5-hydroxytryptamine- and ketanserin-induced reduction of portal pressure in portal hypertensive rats. *British Journal of Pharmacology*, 89: 501-513, 1986.

DABEVA, M. D. & SHAFRITZ, D. A. Activation, proliferation, and differentiation of progenitor cells into hepatocytes in the D-galactosamine model of liver regenaration. *The American Journal of Pathology*, 143: 1.606-1.620, 1993.

DAMIAN, R. T. The exploitation of host immune responses by parasites. *The Journal of Parasitology*, 73: 1-13, 1987.

DE BRITO, T. et al. Glomerular lesions in experimental infections of *Schistosoma mansoni* in *Cebus apella* monkeys. *Buletin of the World Health Organization*, 45: 419-422, 1971.

DE JONGE, F. et al. Effects of *Schistosoma mansoni* infection on somatostatin and somatostatin receptor 2A expression in mouse ileum. *Neurogastroenterology and Motility*, 15: 149-159, 2003.

DE MAN, J. G. et al. Disturbance of the prejunctional modulation of cholinergic neurotransmission during chronic granulomatous inflammation of the mouse ileum. *British Journal of Pharmacology*, 133: 695-707, 2001.

DE MAN, J. G. et al. Effect of somatostatin on contractility in *Schistosoma mansoni* infected mice. *International Journal for Parasitology*, 32: 1.309-1.320, 2002.

DE MAN, J. G. et al. Alteration of the purinergic modulation of enteric neurotransmission in the mouse ileum during chronic intestinal infalmmation. *British Journal of Pharmacology*, 139: 172-184, 2003.

DE ROUSSE, A. R. & ROMERO, J. Ultramicroscopic study of kidney schistosomiasis mansoni in mice (preliminary report). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 16: 362-367, 1974.

DEMO, P. *Complexidade e Aprendizagem: a dinâmica não linear do conhecimento*. São Paulo: Atlas, 2002.

DESSEIN, A. J. et al. Severe hepatic fibrosis in *Schistosoma mansoni* infection is controlled by a major locus that is closely linked to the interferon-γ receptor gene. *American Journal of Human Genetics*, 65: 709-721, 1999.

DETTMAN, C. D. & HIGGIN-OPITZ, S. B. *Mastomys coucha* as a host for experimental schistosomiasis. 2. Failure to develop concomitant immunity against either homologous or heterologous challenge infection. *South African Journal of Science*, 85: 732-736, 1989.

DING, X. et al. The roles of leptin and adiponectin: a novel paradigm in adicytokine regulation of liver fibrosis and stellate cell biology. *American Journal of Pathology*, 166: 1.655-1.669, 2005.

DIOGUARDI, N. et al. Fractal and spectral analysis of liver fibrosis in needle biopsy specimens. *Analytical and Quantitative Cytology and Histology*, 21: 262-266, 1999.

DIOGUARDI, N. et al. Fractal dimension rectified for quantification of liver fibrosis and other irregular microscopic objects. *Analytical and Quantitative Cytology and Histology*, 25: 312-320, 2003.

DOENHOFF, M. J. et al. Studies on the host-parasite relationship in *Schistosoma mansoni*-infected mice. The immunological dependence of parasite egg excretion. *Immunology*, 35: 771-778, 1978.

DOENHOFF, M. J.; HASSOUNAH, A. O. & LUCAS, S. B. Does the immunopathology induced by schistosome eggs potentiate parasite survival? *Immunology Today*, 6: 203-206, 1985.

DOENHOFF, M. J. et al. Immunological control of hepatotoxicity and parasite egg excretion in *Schistosoma mansoni* infections: stage specificity of the reactivity of immune serum in T-cell deprived mice. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 75: 41-53, 1981.

DOENHOFF, M. J. et al. The schistosome egg granuloma: immunopathology in the cause of host protection or parasite survival. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 80: 503-514, 1986.

DOMINGO, E. O. & WARREN, K. S. The inhibition of granuloma formation around *Schistosoma mansoni* eggs. II. Thymectomy. *The American Journal of Pathology*, 51: 757-767, 1967.

DOMINGO, E. O. & WARREN, K. S. The inhbition of granuloma formation around *Schistosoma mansoni* eggs. III. Heterologous antilymphocyte serum. *The American Journal of Pathology*, 52: 613-631, 1968a.

DOMINGO, E. O. & WARREN, K. S. Endogenous desensitization: changing host granulomatous response to schistosome eggs at different stages of infection with *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Pathology*, 52: 369-379, 1968b.

DOMINGO, E. O. & WARREN, K. S. Pathology and pathophisiology of small intestine in murine schistosomiasis mansoni, including a review of the literature. *Gastroenterology*, 56: 231-140, 1969.

DOUGHTY, B. L. & PHILLIPS, S. M. Delayed hypersensitivity granuloma formation around *Schistosoma mansoni* eggs in vitro. I. Definition of the model. *The Journal of Immunology*, 128: 30-36, 1982.

DOUGHTY, B. L. et al. Granulomatous hypersensitivity to *Schistosoma mansoni* egg antigens in human schistosomiasis. I. Granuloma formation and modulation around polyacrylamide antigen-conjugated beads. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82, supl.4: 47-54, 1987.

DUNN, M. A. & KELLEY, E. P. Organ specificity of fibrosis in murine schistosomiasis. *Clinical Research*, 27: 265A, 1979.

DUNNE, D. W. et al. Mechanisms of *Schistosoma mansoni* egg excretion: parasitological observations in immunosuppressed mice reconstituted with immune serum. *Parasite Immunology*, 5: 47-60, 1983.

ELLIOTT, D. E. et al. SSTR2A is the dominant somatostatin receptor subtype expressed by inflammatory cells, is widely expressed and directly regulates T cell IFN-gamma release. *European Journal of Immunology*, 29: 2.454-2.463, 1999.

ELOI-SANTOS, S. M. et al. Idiotypic sensitization in utero of children born to mothers with schistosomiasis or Chagas' disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 84: 1.028-1.031, 1989.

EL-RAZIKY, E. H. et al. A preliminary report on materno-foetal immunological changes in schistosomiasis. II. Circulating antigens and antibodies. *Egyptian Journal of Bilharziasis*, 5: 77-84, 1978.

ELSAGHIER, A. A. et al. *Schistosoma mansoni:* evidence that 'non-permissiveness' in 129/Ola mice involves worm relocation and attrition in the lungs. *Parasitology*, 99(3): 365-375, 1989.

EL-SHERIF, A. K. & BEFUS, D. Predominance of IgA deposists in glomeruli of *Schistosoma mansoni* infected mice. *Clinical and Experimental Immunology*, 71: 39-44, 1988.

ELTOUM, I. A. et al. Suppressive effect of IL-4 neutralization differs for granulomas around *Schistosoma mansoni* eggs injected into mice compared to eggs laid in infected mice. *Infection and Immunity*, 69: 2.532-2.536, 1995.

EMMECHE, C. & EL-HANI, C. N. Definindo a vida. In: EL-HANI, C. N. & VIDEIRA, A. A. P. (Eds.) *O Que é Vida? Para Entender a Biologia do Século XXI*. Rio de Janeiro: Relume Dumará, 2000.

ESTAQUIER, J. & AMEISEN, C. A role for T-Helper type-1 and type-2 cytokine in the regulation of human monocyte apoptosis. *Blood*, 90: 1.618-1.625, 1997.

FALLON, P. F. et al. Expression of interleukin-9 leads to Th2 cytokine-dominated responses and fatal enteropathy in mice with chronic *Schistosoma mansoni* infections. *Infection and Immunity*, 68: 6.005-6.011, 2000.

FANTUZZI, G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 115: 911-919; 2005.

FARAH, I. O. & NYINDO, M. *Schistosoma mansoni* induces in the Kenian baboon a novel intestinal pathology that is manifestly modulated by an irradiated cercarial vaccine. *The Journal of Parasitology*, 82: 601-607, 1996.

FARAZI, P. A. et al. Cooperative interactions of p53 mutation, telomere dysfunction, and chronic liver damage in hepatocellular carcinoma progression. *Cancer Research*, 66(9): 4.766-773, 2006.

FATAAR, S. et al. Case report: calcified pancreas and bile ducts from schistosomiasis. *The British Journal of Radiology*, 69: 1.064-1.066, 1996.

FELDMAN, G. M.; DANNENBERG JR., A. M. & SEED, J. L. Physiologic oxygen tensions limit oxidant-mediated killing of schistosome eggs by inflammatory cells and isolated granulomas. *Journal of Leukocyte Biology*, 47: 344-354, 1990.

FERRU, I. et al. Infection of B-cell-deficient mice by parasite *Schistosoma mansoni:* demonstration of the participation of B cells in granuloma modulation. *Scandinavian Journal of Immunology*, 48: 233-240, 1998.

FIORE, M. et al. *Schistosoma mansoni*: influence of infection on mouse behavior. *Experimental Parasitology*, 83: 46-54, 1996.

FIRKY, M. E. Disturbances of digestion and absorption in bilharzial hepatic fibrosis. *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 66: 213-215, 1963.

FIRKY, M. E. & ABDOUL-WAFA, M. H. Pancreatic functions in bilharzial hepatic fibrosis. *The Alexandria Medical Journal*, 8: 482-572, 1962.

FLORES-VILLANUEVA, P. O. et al. Recombinant IL-10 and IL-10/Fc treatment downregulate egg antigen-specific delayed hypersensitivity reactions and egg granuloma formation in schistosomiasis. *The Journal of Immunology*, 156: 3.315-3.320, 1996.

FOSTER, L. A. & BOGITSH, B. J. Utilization of the heme moiety of hemoglobin by *Schistosoma mansoni* schistosomules in vitro. *The Journal of Parasitology*, 72: 669-676, 1986.

FREEDMAN, D. O. & OTTESEN, E. A. Eggs of *Schistosoma mansoni* stimulate endothelial cell proliferation in vitro. *The Journal of Infectious Diseases*, 158: 556-562, 1988.

FUJIWARA, M.; MAKINO, M. & WATANABE, H. *Schistosoma mansoni*: induction of severe glomerulonephritis in female BXSB mice following chronic infection. *Experimental Partasitology*, 65: 214-221, 1988.

GALVÃO-CASTRO FILHO, B. & ANDRADE, C. C. Q. O pâncreas na forma hepato-esplênica da esquistossomose mansônica. Estudo histomorfológico de 61 casos autopsiados. *Revista de Patologia Tropical*, 3: 295-300, 1973.

GERMAIN, L.; BLOUIN, M. J. & MARCEAU, N. Biliary epithelial and hepatocytic cell lineage relationships in embryonic rat liver as determined by the differential expresion of cytokeratins, alpha-fetoprotein, albumin, and cell surface-exposed components. *Cancer Research*, 48: 4.909-4.918, 1988.

GERMAIN, L.; GOYETTE, R. & MARCEAU, N. Differential cytokeratin and alpha-feto-protein expression in morphologically distinct epithelial cells emerging at the early stage of rat hepatocarcinogenesis. *Cancer Research*, 45: 673-681, 1985.

GERMAIN, L. et al. Promotion of growth and differentiation of rat ductular oval cells in primary culture. *Cancer Research*, 48: 368-378, 1988.

GRANT, C. T. & SENFT, A. W. Schistosome proteolytic enzyme. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 38B: 663-678, 1971.

GREEN, W. F. & COLLEY, D. G. Modulation of *Schistosoma mansoni* egg-induced granuloma formation: I-J restriction of T cell mediated supression in a chronic parasitic infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 78: 1.151-1.156, 1981.

GRIMAUD, J. A. Cell-matrix interactions in schistosomal portal fibrosis: a dynamic event. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82, supl. IV: 55-65, 1987.

GRIMAUD, J. A.; BOROJEVIC, R. & ARAUJO DOS SANTOS, H. Schistosomal pigment in human and murine infections with *Schistosoma mansoni*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 70: 73-77, 1976.

GRIMAUD, J. A. et al. Collagen isotypes, laminin, and fibronectin in granulomas of the liver and intestines of *Schistosoma mansoni*-infected mice. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 37: 335-344, 1987.

GRISHAM, J. W. Cell types in long term propagable culture of rat liver. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 349: 128-137, 1980.

GRISOLIA, C. K. Genes, genome and getalt. *Genetics and Molecular Research*, 4: 100-104, 2005.

GRYSEELS, B. & DE VLAS, S. J. Worm burdens in schistosome infection. *Parasitology Today*, 12: 115-119, 1996.

HANG, L. M.; BOROS, D. L. & WARREN, K. S. Induction of immunological hyporesponsiveness to granulomatous hypersensitivity in *Schistosoma mansoni* infection. *The Journal of Infectious Diseases*, 130: 515-522, 1974.

HASSAN, M. M. et al. Transmission of circulating schistosomal antigens from infected mothers to their newborns. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 27: 773-780, 1997.

HENDERSON, G. S. et al. *In vivo* molecular analysis of lymphokines involved in murine immune response during *Schistosoma mansoni* infection.II. Quantification of IL-4 mRNA, IFN-g mRNA, and IL-2 mRNA levels in the granulomatous livers, mesenteric lymph nodes, and spleens during then course of modulation. *The Journal of Immunology*, 148: 2.261-2.269, 1992.

HERNANDEZ, H. J.; WANG, Y. & STADECKER, M. J. In infection with *Schistosoma mansoni*, B cells are required for T helper type 2 cell responses but not for granuloma formation. *The Journal of Immunology*, 158: 4.832-4.837, 1997.

HOLDEN, C. Stem cell research: cells find destiny through merger. *Science*, 300: 35, 2003.

HOLLAND, J. H. *Hidden Order: how adaptation builds complexity*. Cambridge: Perseus Books, 1995.

HOLLAND, J. H. Sistemas complexos adaptativos e algoritmos genéticos. In: NUSSENZVEIG, H. M. (Ed.) *Complexidade e Caos*. Rio de Janeiro: Editora UFRJ/Copea, 1999.

HOLT, S. E. et al. Resistance to apoptosis in human cells conferred by telomerase function and telomere stability. *Molecular Carcinogenesis*, 25: 241-248, 1999.

HORTON, M. A. et al. Cloning of the murine eosinophil peroxidase gene (mEPO): characterization of a conserved subgroup pf mammalian hematopoietic peroxidases. *Journal of Leukocyte Biology*, 60: 285-294, 1996.

HOUBA, V. Experimental renal disease due to schistosomiasis. *Kidney International*, 16: 30-43, 1979.

HOUBA, V.; STURROCK, R. F. & BUTTERWORTH, A. E. Kidney lesions in baboons infected with *Schistosoma mansoni*. *Clinical and Experimental Immunology*, 30: 439-449, 1977.

HYLLIER, G. V. et al. Evidence of transplacental passage of specific antibody in schistosomiasis mansoni in man. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 19: 188-190, 1970.

INGBERG, D. E. Tensegrity I. Cell structure and hierarchical systems biology. *Journal of Cell Science*, 116: 1.157-1.173, 2003.

ISLAM, M. Z. et al. Selective alteration of agonist-mediated contraction in hepatic arteries isolated from patients with cirrhosis. *Gastroenterology*, 118: 765-771, 2000.

IWAKIRI, Y. et al. Mice with targeted deletion of eNOS develop hyperdynamic circulation associated with portal hypertension. *The American Journal of Physiology*, 283: G1.074-G1.081, 2002.

JACOBS, W. & VAN MARCK, E. Adhesion and co-stimulatory molecules in the pathogenesis of hepatic and intestinal schistosomiasis mansoni. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93: 523-529, 1998.

JACOBS, W. et al. Adult *Schistosoma mansoni* worms positively modulate soluble egg antigen-induced inflammatory hepatic granuloma formation *in vivo*. Stereological analysis and immunophenotyping of extracellular matrix proteins, adhesion molecules, and chemokines. *The American Journal of Pathology*, 150: 2.033-2.045, 1997a.

JACOBS, W. et al. Expression of intercellular adhesion molecule-1 and lymphocytefunction-associated antigen-1 in experimental *Schistosoma mansoni* infection and in synchronous periparticular hepatic granulomas in mice: immunohistochemistry, confocal laser scanning microscopy, and immunoelectron microscopy. *Parasitology Research*, 83: 405-412, 1997b.

JACOBS, W. et al. Adhesion molecules in intestinal *Schsitosoma mansoni* infection. *Parasitology Research*, 84: 276-280, 1998.

JACOBSEN, E. A. Eosinophils and asthma. *Current Allergy and Asthma Reports*, 7:18-26, 2007.

JANKOVIC, D. et al. $CD4^{+}$ cell-mediated granulomatous pathology in schistosomiasis is downregulated by a B cell-dependent mechanism requiring Fc receptor signaling. *The Journal of Experimental Medicine*, 187: 619-629, 1998.

JOAZEIRO, P. P. *Localização da Elastina na Remodelação do Tecido Conjuntivo Hepático do Granuloma da Esquistossomose no Camundongo em Níveis de Microscopia de Luz e Eletrônica*, 1995. Tese de Doutorado, São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

JOHNSON, S. *Emergências: a vida integrada de formigas, cérebros, cidades e softwares.* Rio de Janeiro: Jorge Zahar Editora, 2003.

JOSEPH, A. L. & BOROS, D. L. Tumor necrosis factor plays a role in *Schistosoma mansoni* egg-induced granulomatous inflammation. *The Journal of Immunology*, 1.512: 5.461-5.471, 1993.

JUNQUEIRA, L. C. U.; BIGNOLAS, G. & BRENTANI, R. R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *The Histochemical Journal*, 11: 447-455, 1979.

JUNQUEIRA, L. C. U. et al. Morphological, histochemical and biochemical observation on ther connective tissue matrix of *in situ* and isolated hepatic granulomas in experimental murine schsitosomiasis. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 80: 27-41, 1986.

KAMAL, M. et al. Paneth and intermediate cell hyperplasia induced in mice by helminth infections. *Parasitology*, 125(3): 275-281, 2002.

KANSE, S. M. et al. Characterization and partial purification of *Schistosoma mansoni* egg-derived pro-angiogenic factor. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 144: 76-85, 2005.

KAPLAN, M. H. et al. Th2 cells are required for the *Schistosoma mansoni* egg-induced granulomatous response. *The Journal of Immunology*, 160: 1.850-1.856, 1998.

KAROUM, K. O. & AMIN, M. A. Domestic and wild animals naturally infected with *Schsitosoma mansoni* in the Gezira Irrigated Scheme, Sudan. *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 88: 83-89, 1985.

KASSCHAU, M. R. & DRESDEN, H. M. *Schistosoma mansoni*: characterization of hemolytic activity from adult worms. *Experimental Parasitology*, 61: 201-209, 1986.

KEAN, B. H. & DENNIS, D. T. The pathogenesis of junctional nodules in Schistosomiasis. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 64: 84-95, 1971.

KEPHART, G. M.; ANDRADE, Z. A. & GLEISH, G. J. Localization of eosinophil major basic protein onto eggs of *Schistosoma mansoni* in human pathologic tissue. *The American Journal of Pathology*, 133: 389-396, 1988.

KERSHAW, E. E. & FLIER, J. S. Adipose tissue as an endocrine organ. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89: 2.548-2.556, 2004.

KING, C. L.; XIANLI, J. & STAVITSKY, A. B. Murine schistosomiasis mansoni: coordinate cytokine regulation and differences in cellular immune responses of granuloma cells and splenocytes to endogenous and exogenous schistosome egg antigens. *Parasite Immunology*, 23: 607-615, 2001.

KLAPPER, W.; PARWARESCH, R. & KRUPP, G. Telomere biology in human aging and aging syndromes. *Mechanisms of Aging and Development*, 122: 695-712, 2001.

KLOETZEL, K. A colagenase-like enzyme diffusing from eggs of *Schistosoma mansoni*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 61: 608-609, 1967.

KLOETZEL, K. A colagenase-like substance produced by eggs of *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology*, 54: 177-178, 1968.

KLOETZEL, K. Tissue reactions to *Schistosoma mansoni* ova. III. Microcirculatrion in the intestine of infected mice, as studied by injection of contrast material. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 13: 51-56, 1971.

KLOETZEL, K. & LEWERT, R. M. Pigment formation in *Schistosoma mansoni* infections in the white mouse. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 15: 28-31, 1966.

KNOLLE, P. A. & GERKEN, G. Local control of the immune response in the liver. *Immunological Reviews*, 174: 21-34, 2000.

KORBLING, M. et al. Hepatocytes and epithelial cells of donor origin in recipients of peripheral-blood stem cells. *The New England Journal of Medicine*, 346: 738-746, 2002.

LADOSKY, W. O comportamento do pâncreas na esquistossomose mansônica hepato-esplênica. Estudo comparativo com o comportamento do mesmo órgão na cirrose de Morgagni-Laennec. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 4: 141-150, 1958.

LAGO, F. et al. Adipokines as emerging mediators of immune response and inflammation. *Nature Clinical Practice Rheumatology,* 3: 716-724, 2007a.

LAGO, F. et al. The emerging role of adipokines as mediators of inflammation and immune responses. *Cytokine & Growth Factor Reviews,* 18: 313-325, 2007b.

LAWRENCE, J. D. The ingestion of red blood cells by *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology*, 59: 60-63, 1973.

LEE, J. J. & LEE, N. A. Eosinophil degranulation: an evolutionary vestige or a universally destructive effector function? *Clinical and Experimental Allergy*, 35: 986-994, 2005.

LEES, R. E. M. & JORDAN, P. Transplacental transfer of antibodies to *Schistosoma mansoni* and their persistence in infants. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 62: 630-631, 1968.

LEJOLY-BOISSEAU, H. et al. *Schistosoma mansoni*: *in vitro* adhesion of parasite eggs to the vascular endothelium. Subsequent inhibition by a monoclonal antibody directed to a carbohydrate epitope. *Experimental Parasitology*, 91: 20-29, 1999.

LEMIRE, J. M.; SHIOJIRI, N. & FAUSTO, N. Oval cell proliferation and the origin of small hepatocytes in liver injury induced by D-galactosamine. *The American Journal of Pathology*, 139: 535-552, 1991.

LENZI, H. L. *A Dinâmica da Resposta Hematológica e Celular na Esquistossomose Mansônica Murina, com Ênfase nas Séries Eosinofílica e Mastocitária*, 1991. Tese de Doutorado, Belo Horizonte: Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais.

LENZI, H. L. & LENZI, J. A. Comparative distribution of eosinophils in bone marrow, blood and peritoneal cavity in murine schistosomiasis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 23: 989-994, 1990.

LENZI, H. L. & ROMANHA, W. S. Schistosomal granuloma is like a small multicellular organism that operates as a complex system. In: MONDAINI, R. (Ed.) *Proceedings of the Second Brazilian Symposium on Mathematical and Computational Biology*. Rio de Janeiro: E-papers Serviços Editoriais, 2003.

LENZI, H. L. & VANNIER-SANTOS, M. A. Interface parasito-hospedeiro: coabitologia – uma visão diferente do fenômeno parasitismo. In: COURA, J. R. (Ed.) *Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. v. I.

LENZI, H. L.; LENZI, J. A. & ROSMAN, F. C. Pancreatic involvement in murine schistosomiasis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 22: 1.105-1.109, 1989.

LENZI, H. L.; LENZI, J. A. & SOBRAL, A. C. L. Eosinophils favor the passage of eggs to the intestinal lumen in schistosomiasis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 210: 433-435, 1987.

LENZI, H. L.; ROMANHA, W. S. & PELAJO-MACHADO, M. Possíveis níveis de complexidade na modelagem de sistemas biológicos: pode a matemática coreografar a dança biológica? In: DE ANDRADE, E. X. L.; SAMPAIO, R. & SILVA, G. N. (Eds.) *Notas em Matemática Aplicada (Modelagem em Biomatemática)*. São Carlos: Sociedade Brasileira de Matemática Aplicada e Computacional, 2004. v. 13.

LENZI, H. L.; SOBRAL, A. C. L. & LENZI, J. A. 'In vivo' kinetics of eosinophils and mast cells in experimental murine schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82, supl. IV: 67-76, 1987.

LENZI, H. L.; SOBRAL, A. C. & LENZI, J. A. Participation of endothelial cells in murine schistosomiasis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 21: 999-1.003, 1988.

LENZI, H. L. et al. Extracellular matrix in parasitic and infectious diseases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 86, supl. III: 77-90, 1991.

LENZI, H. L. et al. Extramedullary hematopoiesis in murine schistosomiasis mansoni. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90: 169-177, 1995.

LENZI, H. L. et al. Immunological system and *Schistosoma mansoni*: co-evolutionary immunobiology. What is the eosinophil role in parasite-host relationship? *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92, supl.II: 19-32, 1997.

LENZI, H. L. et al. Histoarchitecture of schistosomal granuloma development and involution: morphogenetic and biomechanical approaches. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93, supl. I: 141-151, 1998.

LENZI, H. L. et al. Four whole-istic aspects of schistosme granuloma biology: fractal arrangement, internal regulation, autopoietic component and closure. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101, supl. I: 219-231, 2006.

LENZI, J. A. *Estudo do Modelo* Calomys calllosus *RENGGER, 1980 (Rodentia: Cricetidae) na Infecção por* Schistosoma mansoni *SAMBON, 1907*; *Parâmetros Parasitológicos e Histopatológicos*, 1998. Tese de Doutorado, Salvador: Curso de Pós-Graduação em Patologia, Universidade Federal da Bahia.

LENZI, J. A. et al. Congenital and nursing effects on the evolution of *Schistosoma mansoni* infection in mice. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82, supl. 4: 257-267, 1987.

LENZI, J. A. et al. *Calomys callosus*: an alternative model to study fibrosis in schistosomiasis mansoni. The pathology of the acute phase. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90: 311-318, 1995.

LENZI, J. A. et al. Intestinal fibrovascular nodules caused by *Schistosoma mansoni* infection in Calomys callosus Rengger, 1830 (Rodentia:Cricetidae): a model of concomitant fibrosis and angiogenesis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97, supl. I: 117-127, 2002.

LENZI, R. et al. Histogenesis of bile duct-like cells proliferating during ethionine hepatocarcinogenesis: evidence for a biliary epithelial nature of oval cells. *Laboratory Investigation*, 66: 390-402, 1992.

LEWERT, R. M. & MANDLOWITZ, S. Schistosomiasis: prenatal induction of tolerance to antigens. *Nature*, 224: 1.029-1.030, 1969.

LI, S. et al. Cellular and gene expression responses involved in the rapid growth inhibition of human cancer cells by RNA interference-mediated depletion of telomerase RNA. *The Journal of Biological Chemistry*, 280(25): 23.709-23.717, 2005.

LI, W. et al. Role of the liver in peripheral tolerance: induction through oral antigen feeding. *American Journal of Transplantation*, 4: 1.574-1.582, 2004.

LOEFFLER, D. A. et al. Soluble egg antigen from *Schistosoma mansoni* induce angiogenesis-related processes by up-regulating vascular endothelial growth factor in human endothelial cells. *The Journal of Infectious Diseases*, 185: 1.650-1.656, 2002.

LOPES, J. D. et al. Circulating antigens, antibodies and glomerular immune complexes in mice with unisexual *Schistosoma mansoni* infection. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 23: 155-160, 1981.

LOVERDE, P. T. et al. Evidence for host-induced selection in *Schistosoma mansoni. The Journal of Parasitology*, 71: 297-301, 1985.

LUKACS, N. W. et a. Inflammatory granuloma formation is mediated by TNF-alpha-inducible intercellular adhesion molecule-1. *The Journal of Immunology*, 152: 5.883-5.889, 1994.

LUND, O. et al. *Immunologic Bioinformatics.* London: The MIT Press, 2005.

LUNDY, S. K. & BOROS, D. L. Fas ligand-expressing B-1a lymphocytes mediate CD4+ -T-Cell apoptosis during schistosomal infection: induction by interleukin 4 (IL-4) and IL-10. *Infection and Immunity*, 70: 812-819, 2002.

LUNDY, S. K.; LERMAN, S. P. & BOROS, D. L. Soluble egg antigen-stimulated T helper lymphocyte apoptosis and evidence for cell death mediated by FasL$^+$ T and B cells during murine *Schistosoma mansoni* infection. *Infection and Immunity*, 69: 271-280, 2001.

MAGHRABY, A. S.; MOHAMED, M. A. & ABDEL-SALAM, A. M. Anti-schistosomal activity of colostral and camel milk on *Schistosoma mansoni* infected mice. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 14: 432-438, 2005.

MAINES, M. D. & SENFT, A. W. Host heme biosynthesis and degradation in schistosomiasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 30: 1.010-1.019, 1981.

MALDONADO JR., A. et al. Evaluation of the resistance to *Schistosoma mansoni* infection in *Nectomys squamipes* (Rodentia:Cricetidae), a natural host of infection in Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 36: 193-198, 1994.

MANDELBROT, B. *Objetos Fractais: forma, acaso e dimensão*. Lisboa: Gradiva, 1998.

MARCIAL-ROJAS, R. A. *Pathology of Protozoal and Heminthic Diseases*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1971.

MARRA, F. et al. Adipokines and liver fibrosis. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 9: 279-284, 2005.

MARTÍN-RIVERA, L. et al. Expression of mouse telomerase catalytic subunit in embrios and adult tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 95: 10.471-10.476, 1998.

MATHEW, R. C.; RAGHEB, S. & BOROS, D. L. Recombinant IL-2 therapy reeverses diminished granulomatous responsiveness in anti-L3T4-treated *Schistosoma mansoni*-infected mice. *The Journal of Immunology* 144: 435-436, 1990.

MCLAREN, D. J. Experimental animal models in vaccination against schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 84, supl. I: 188-196, 1989.

MELLO, D. A. Infecção experimental de *Calomys callosus* (Rengger, 1830), (Cricetidae-Rodentia) a quatro espécies de parasitos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 13: 101-105, 1979/80.

MELLOR, A. L. & MUNN, D. A. Tryptofan catabolism and T-cell tolerance: immunosuppression by starvation? *Immunology Today*, 20: 469-473, 1999.

MELRO, M. C. B. F. & MARIANO, M. Extra-tissular *Schistosoma mansoni* egg granulomata in the peritoneal cavity of mice. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82, supl. IV: 245-252, 1987.

METWALI, A. et al. Modulation of T lymphocyte proliferation in mice infected with *Schistosoma mansoni*: VIP suppresses mitogen-and antigen induced T cell proliferation possibly by inhibiting IL-2 production. *Cellular Immunology*, 149: 11-23, 1993a.

METWALI, A. et al. IL-2 contributes to the IL-5 response in granulomas from mice infected with *Schistosoma mansoni. The Journal of Immunology*, 150: 536-542, 1993b.

METWALI, A. et al. The granulomatous response in murine schistosomiasis mansoni does not switch to Th1 in IL-4 deficient C57BL/6 mice. *The Journal of Immunology*, 157: 4.546-4.553, 1996.

MIR, L. et al. Glossário. In: MIR, L. (Org.) *Genomica*. São Paulo: Atheneu, 2004.

MOAL, F. et al. Fractal dimension can distinguish models and pharmacologic changes in liver fibrosis in rats. *Hepatology*, 37: 483-484, 2003.

MODENA, C. M. et al. Transmission of *Schistosoma mansoni* under experimental conditions using the bovine-*Biomphalaria glabrata*-bovine model. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 35(1): 11-16, 1993.

MONTESANO, M. A. et al. Immunoregulatory idiotypes stimulate T helper 1 cytokine responses in experimental *Schistosoma mansoni* infections. *The Journal of Immunology*, 158: 3.800-3.804, 1997.

MONTESANO, M. A. et al. Neonatal idiotypic exposure alters subsequent cytokine pathology, and survival patterns in experimental *Schistosoma mansoni* infections *The Journal of Experimental Medicine*, 1898: 637-645, 1999a.

MONTESANO, M. A. et al. Neonatal exposure to idiotype induces *Schistosoma mansoni* egg antigen-specific cellular and humoral immune responses. *The Journal of Immunology*, 163: 898-905, 1999b.

MOREELS, T. G. et al. Effect of *Schistosoma mansoni*-induced granulomatous inflammation on murine gastrointestinal motility. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 280: 1.030-1.042, 2001.

MORENO, L. et al. Anatomical differences in responsiveness to vasoconstrictors in the mesenteric veins from normal and hypertensive rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 354: 474-480, 1996.

MORIN, E. *O Método 1: a natureza da natureza*. Sintra: Publicações Europa-América, 1977.

MOSCA, P. et al. Pharmacology of portal-systemic collaterals in portal hypertensive rats: role of endothelium. *The American Journal of Physiology*, 26: G544-G550, 1992.

MOTA, I.; ALVAREZ, J. M. & FERNANDES, I. *Dicionário de Imunologia: inglês, português e espanhol*. São Paulo: Atheneu Editora, 1999.

MOTT, C. R.; NEVES, D. P. & BETARELLO, A. Absorção intestinal na forma hepatoesplênica da esquistossomose mansônica. *Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo*, 26: 55.060, 1971.

MOTT, C. R. et al. Histologic and functional alterations of human exocrine pancreas in Manson's Schistosomiasis. *Digestive Diseases*, 17: 583-590, 1972.

MULLER, E. et al. Effects on the neutral lipid contents of the liver, ileum and serum during experimental schistosomiasis. *International Journal for Parasitology*, 31: 285-287, 2001.

NASH, T. E. et al. Schistosome infections in humans: perspectives and recent findings. *Annals of Internal Medicine*, 97: 740-754, 1982.

NATALI, P. G. & CIOLLI, D. Immune complex nephritis in *Schistosoma mansoni*-infected mice. *European Journal of Immunology*, 6: 359-364, 1976.

NEAL, C. P. et al. Molecular prognostic markers in resectable colorectal liver metastases: a systematic review. *European Journal of Cancer*, 42(12): 1.728-1.743, 2006.

NEVES, J. *Esquistossomose Mansônica: clínica da forma aguda ou toxêmica*. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica, 1986.

NGAIZA, J. R.; DOENHOFF, M. J. & JAFFE, E. A. *Schistosoma mansoni* egg attachment to cultured human umbilical vein endothelial cells: an in vitro model of an early step of parasite egg excretion. *The Journal of Infectious Diseases*, 168: 1.576-1.580, 1993.

NJENGA, M. N. et al. Periportal fibrosis of the liver due to natural or experimentl infection with *Schistosoma mansoni* occurs in the Kenyan baboon. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 92: 187-193, 1998.

NOURELDIN, M. S. & SHALTOUT, A. A. Anti-schistosomal IgE ands its relation to gastrointestinal allergy in breast-fed infants of *Schistosoma mansoni* infected mothers. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 28: 539-550, 1998.

NOVATO-SILVA, E.; GAZZINELLI, G. & COLLEY, D. G. Immune responses during human schistosomiasis mansoni. XVIII. Immunologic status of pregnant women and their neonates. *Scandinavian Journal of Immunology*, 35: 429-437, 1992.

NYINDO, M. & FARAH, I. O. The baboon as a non-human primate model of human schistosome infection. *Parasitology Today*, 15: 478-482, 1999.

OBEN, J. A. et al. Sympathetic nervous system inhibition increases hepatic progenitors and reduces liver injury. *Hepatology*, 38: 664-673, 2003.

ODEMUYIWA, S. O. et al. Cutting edge: human eosinophils regulate T cell subset selection through indoleamine 2,3-Dioxygenase. *The Journal of Immunology*, 173: 5.909-5.913, 2004.

OHYASHIKI, J. H. et al. Telomeres and telomerase in hematologic neoplasia. *Oncogene*, 21(4): 680-687, 2002.

OLDS, G. R. & MAHMAOUD, A. A. Role of host granulomatous response in murine schistosomiasis mansoni. eosinophil-mediated destruction of eggs. *The Journal of Clinical Investigation*, 66: 1.191-1.199, 1980.

OLIVEIRA, M. F. et al.Haemozoin in *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 111: 217-221, 2000.

OLIVEIRA, M. F. et al. On the pro-oxidant effects of haemozoin. *Febs Letters*, 512: 139-144, 2002.

OSWALD, I. P. et al. Endothelial cells are activated by cytokine treatment to kill an intravascular parasite, *Schistosoma mansoni*, through the production of nitric oxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 91: 999-1.003, 1994.

OTTE, C. et al. Expression of leptin and leptin receptor during the development of liver fibrosis and cirrhosis. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 112: 10-17, 2004.

PADIGEL, U. M. et al. Eosinophils can function as antigen-presenting cells to induce primary and secondary immune responses to *Strongyloides stercoralis. Infection and Immunity*, 74: 3.232-3.238, 2006.

PAKU, S. et al. origin and structural evolution of the early proliferating oval cells in rat liver. *The American Journal of Pathology*, 158: 1.313-1.323, 2001.

PANASCO, M. S. *Compromentimento do Pâncreas na Esquistossomose Mansônica Murina*, 1996. Dissertação de Mestrado, Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz.

PARISE, E. R. et al. Basement membrane proteins and type III procollagen in murine schistosomiasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 79: 663-670, 1985.

PARK, S. et al. Biology and significance of T-cell apoptosis in the liver. *Immunology and Cell Biology*, 80: 74-83, 2002.

PATEL, B. K. et al. Stat6 and Jak1 are common elements in platele-derived growth factor and interleukin-4 signal transduction pathways in NIH 3T3 fibroblasts. *The Journal of Biological Chemistry*, 271: 22.175-22.182, 1996.

PEARCE, E. J. et al. Downregulation of Th1 cytokine production accompanies induction of Th2 responses by a parasitic helminth *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Experimental Medicine*, 173: 159-166, 1991.

PEREIRA, O. A. & BARRETO NETO, M. Esquistossomose pancreática. Aspectos clínicos patológicos – apresentação de 3 casos. *Arquivos Brasileiros de Medicina*, 42: 311-333, 1952.

PETERSEN, B. et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science*, 284: 1.168-1.170, 1999.

PHILLIPS, S. M. & COLLEY, D. G. Immunologic aspects of host responses to schistosomiasis: resistance, immunopathology, and eosinophil involvement. *Progress in Allergy*, 23: 49-182, 1978.

PHILLIPS, S. M. et al. Schistosomiasis in the congenitally athymic (nude) mouse. I. Thymic dependency of eosinophilia, granuloma formation, and host morbidity. *The Journal of Immunology*, 118: 594-599, 1977.

PHILLIPS, S. M. et al. The immunologic modulation of morbidity in schistosomiasis: studies in athymic mice and *in vitro* granuloma formation. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 29: 820-831, 1980.

PICHYANGKUL, S.; SAENGKRAI, P. & WEBSTER, H. K. *Plasmodium falciparum* pigment induces monocytes to release high levels of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 beta. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 51: 430-435, 1994.

PINO-HEISS, S.; BROWN, M. & MCKERROW, J. H. *Schistosoma mansoni*: degradation of host extracellular matrix by eggs and miracidia. *Experimental Parasitology*, 59: 217-221, 1985.

PINTO, P. M. et al. Contrasting genomic variability between clones from field isolates and laboratory populations of *Schistosoma mansoni*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92: 409-414, 1997.

PIZCUETA, M. P. et al. Effects of inhibiting nitric oxide biosynthesis on the systemic and splanchnic circulation of rats with portal hypertension. *British Journal of Pharmacology*, 105: 184-190, 1992.

POND, C. M. Physiological specialisation of adipose tissue. *Progress in Lipid Research*, 38(3): 225-248, 1999.

POND, C. M. Adipose tissue, the anatomists' Cinderella, goes to the ball at last, and meets some influential partners. *Postgraduate Medical Journal*, 76: 671-673, 2000.

POND, C. M. Paracrine relationships between adipose and lymphoid tissues: implications for the mechanism of HIV-associated adipose redistribution syndrome. *Trends Immunology*, 24(1): 13-18, 2003.

PORTILLO, H. A. & DAMIAN, R. T. Experimental *Schistosoma mansoni* infection in a small New World monkey, the Saddle-Back Tamarin (*Saguinus fuscicollis*). *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 35: 515-522, 1986.

POTTER, J. J.; RENNIE-TANKESLEY, L. & MEZEY, E. Influence of leptin in the development of hepatic fibrosis produced by *Schistosoma mansoni* infection and by chronic carbon tetrachloride administration. *Journal of Hepatology*, 38: 281-288, 2003

POTTER, J. J. et al. Transdifferentiation of rat hepatic stellate cells results in leptin expression. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 244: 178-182, 1998.

POWERS, K. G. & CHEEVER, A. W. Comparison of geographical strains of *Schistosoma mansoni* in the rhesus monkey. *Bulletin of the World Health Organization*, 46: 295-300, 1972.

PRATA, A. *Biópsia Retal na Esquistossomose Mansônica: bases e aplicações no diagnóstico e tratamento*, 1957. Tese de Doutorado, Rio de Janeiro: Serviço de Educação Sanitária, Ministério da Saúde.

QIAN, J. et al. Studies on the induction of tolerance to alloantigens. I. The abrogation of potentials for delayed-type-hypersensitivity response to alloantigens by portal venous inoculation with allogenic cells. *The Journal of Immunology*, 134: 3.656-3.661, 1985.

RAKASZ, E. et al. Localization and regulation of IFN-gamma production within the granulomas of murine schistosomiasis in IL-4 deficient and control mice. *The Journal of Immunology*, 160: 4.994-4.999, 1998.

RAMADAN, M. & MICHAEL, A. I. Schistosomal pigment in murine hepatic bilharziasis. *Acta Histochemica*, 34: 238-245, 1969.

RAMOS, E. A. & ANDRADE, Z. A. Chronic glomerulonephritis associated with hepatosplenic Schistosomiasis mansoni. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 29: 162-167, 1987.

RAO, A.; LUO, C. & HOGAN, P. G. Transcription factors of the NFAT family: regulation and function. *Annual Review of Immunology*, 15: 707-747, 1997.

RASO, P. & BOGLIOLO, L. Patologia. In CUNHA, A. S. (Ed.) *Esquistossomose Mansônica*. São Paulo: Sarvier, Edusp, 1970.

RASO, P.; PEDROSO, E. R. P. & NEVES, J. Patologia da forma aguda toxêmica da esquistossomose mansônica. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 19: 45-55, 1986.

REIMAN, R. M. et al. Interleukin-5 (IL-5) augments the progression of liver fibrosis by regulating IL-13 activity. *Infection and Immunity*, 74: 1.471-1.479, 2006.

REIS, M. G. & ANDRADE, Z. A. Functional significance of periovular granuloma in schistosomiasis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 20: 55-62, 1987.

RENGARAJAN, J.; SZABO, S. J. & GLIMCHER, L. H. Transcriptional regulation of Th1/Th2 polarization. *Immunology Today*, 21: 479-483, 2000.

REYNAERT, H. et al.Effect of somatostain -14 on extracellular matrix expression by activated rat hepatic stellate cell . *Journal of Hepatology*, 34: 6-14, 2001.

REYNAERT, H. et al. Hepatic stellate cells: role in microcirculation and pathophysiology of portal hypertension. *Gut*, 50: 571-581, 2002.

RICHARDS, C. S. & SHADE, P. C. The genetic variation of compatibility in *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni. The Journal of Parasitology*, 73: 1.146-1.151, 1987.

RITTER, D. M. & MCKERROW, J. H. Intercellular adhesion molecule 1 is the major adhesion molecule expressed during schistosome granuloma formation. *Infection and Immunity*, 64: 4.706-4.713, 1996.

RODRIGUES-SILVA, R. Nectomys squamipes *e* Akodon arviculoides *(Rodentia:Cricetidae) como Hospedeiros Naturais do* Schistosoma mansoni *em Sumidouro, RJ, Brasil. Emprego do* Nectomys *como Modelo Alternativo no Estudo da Esquistossomose Mansônica*, 1989. Dissertação de Mestrado, Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz.

RODRIGUES E SILVA, R. et al. Natural infection of wild rodents by *Schistosoma mansoni*. Parasitological aspects. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87, supl. I: 271-276, 1992.

ROMANHA, W. S. *Mapeamento de Moléculas de Adesão e Componentes de Matriz Extracelular no Transcurso do Desenvolvimento de Granulomas Esquistossomáticos Murinos: visão morfogenética*, 1999. Dissertação de Mestrado, Curso de Biologia Celular e Molecular, Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz.

ROMIA, A. S. et al. Transplacental transfer of schistosomal antigens and antibodies. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 22: 575-582, 1992.

ROONEY, J. W. et al. A common factor regulates both Th1- and Th2-specific cytokine gene expression. *Embo Journal*, 13: 625-633, 1994.

ROSE, S. *Trayectorias de Vida-biologia, Libertad y Determinismo*. Barcelona: Granica, 2001.

ROSENBERG, H. F. The eosinophil ribonucleases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 54: 795-803, 1998.

ROSKAMS, T. & DESMET, V. Parathyroid-hormone-related peptides: a new class of multifunctional proteins. *The American Journal of Pathology*, 150: 779-785, 1997.

ROSKAMS, T.; LIBBRECHT, L. & DESMET, V. J. Progenitor cells in diseased human liver. *Seminars in Liver Disease*, 23: 385-396, 2003.

ROSKAMS, T. et al. Neuroregulation of neuroendocrine compartment of the liver. *The Anatomical Record. Part A*, 280: 910-923, 2004.

ROSSI, M. L. et al. Extramedular B lymphopoiesis in liver schistosomal graqnulomas: presence of the early stages and inhibition of the full B cell differentiation. *International Immunology*, 11: 509-518, 1999.

ROTHENBERG, M. E. & HOGAN, S. P. The eosinophil. *Annual Review of Immunology*, 24: 147-174, 2006.

ROYE, O. et al. Dermal endothelial cells and keratinocytes produce IL-7 *in vivo* after human *Schistosoma mansoni* percutaneous infection. *The Journal of Immunology*, 161: 4.161-4.168, 1998.

RUBIN, H. The disparity between human cell senescence *in vitro* and lifelong replication *in vivo*. *Nature Biotechnology*, 20: 675-681, 2002.

RUMBLEY, C. A. et al. The schistosome granuloma: characterization of lymphocyte migration, activation, and cytokine production. *The Journal of Immunology*, 161: 4.129-4.137, 1998.

RUMBLEY, C. A. et al. Elimination of lymphocytes, but not eosinophils by Fas-mediated apoptosis in murine schistosomiasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 65: 442-449, 2001.

RUTITZKY, L. I.; MIRKIN, G. A. & STADECKER, M. J. Apoptosis by neglect of CD4+ Th cells in granulomas: novel effector mechanism involved in the control of egg-induced immunopathology in murine schistosomiasis. *The Journal of Immunology*, 171: 1.859-1.867, 2003.

RYTER, S. W. & TYRREL, R. M. The heme synthesis and degradation pathways: role in oxidant sensitivity. Heme oxygenase has both pro- and antioxidant properties. *Free Radical Biology & Medicine*, 28: 289-309, 2000.

SADEK, G. A.; BORGES, D. R. & MISZPUTEN, S. J. Atividade dissacarídica intestinal da esquistossomose mansônica. Estudo evolutivo em camundongos com diferentes cargas de infecção. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 28: 67-73, 1986.

SADIGURSKY, M. & ANDRADE, Z. A. Pulmonary changes in schistosomal cor pulmonale. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 31: 779-784, 1982.

SADUN, E. H. et al. Schistosomiasis mansoni in the chimpanzee. The natural history of chronic infections after single and multiple exposures. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 19: 258-277, 1970.

SADUN, E. H. et al. Effects of portocaval shunting on *Schistosma japonicum* infection in chipamzees: dissociation of pipe-stem fibrosis and glomerulopathy. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 24: 619-631, 1975.

SAEVARSDOTTIR, S.; VIKINGSDOTTIR, T. & VALDIMARSSON, H. The potential role of mannan-binding lectin in the clearance of self-components including immune complexes. *Scandinavian Journal of Immunology*, 60: 23-29, 2004.

SANDOR, M.; WEINSTOCK, J. & WYNN, T. Granulomas in schistosome and mycobacterial infections: a model of local immune responses. *Trends in Immunology*, 1: 44-52, 2003.

SANTORO, F. et al. Mother-child relationship in human schistosomiasis mansoni. I. Parasitic antigens and antibodies in milk. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 26(6 Pt 1): 1.164-1.168, 1977.

SANTOS, R. O.; BARBOSA JR., A. A. & ANDRADE, Z. A. Dynamics of fibrosis production and resorption in intestinal schistosomiasis of mice. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87: 25-31, 1992.

SAUER, M. C. & SENFT, A. W. Properties of a proteolytic enzyme from *Schistosoma mansoni*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 42B: 205-220, 1972.

SCHROECKSNADEL, K.; WIRLEITER, B. & FUCHS, D. Anemia and congestive heart failure. *Circulation*, 108: 41, 2003.

SCHWARZER, E. & ARESE, P. Phagocytosis of malarial pigment hemozoin inhibits NADPH-oxidase activity in human monocyte-derived macrophages. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1.316: 169-175, 1996.

SCHWARZER, E. et al. Impairment of macrophage functions after ingestion of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes or isolated malarial pigment. *The Journal of Experimental Medicine*, 176: 1.033-1.041, 1992.

SCHWARZER, E. et al. Increased levels of 4-hydroxynonenal in human monocytes fed with malarial pigment hemozoin. *Febs Letters*, 388: 119-122, 1996.

SCHWARZER, E. et al. Phagocytosis of the malarial pigment, hemozoin, impairs expression of major histocompatibility complex class II antigen, CD54, and CD 11c in human monocytes. *Infection and Immunity*, 66: 1.601-1.606, 1998.

SCHWINGSHACKI, A. et al. Human eosinophil release matrix metalloproteinase-9 on stimulation with THF-alpha. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 104: 983-989, 1999.

SCORZA, T. et al. Hemozoin is a key factor in the induction of malaria-associated immunosuppression. *Parasite Immunology*, 21: 545-554, 1999.

SEMPOWSKI, G. D. et al. Subsets of murine lung fibroblasts express membrane-bound and soluble IL-4 receptors: role for IL-4 in enhancing fibroblasts proliferation and collagen synthesis. *The Journal of Immunology*, 152: 3.606-3.614, 1994.

SENFT, A. W. et al. Schistosomal hemoglobinase: nature of the protease and implications for the host. In: VAN DEN BOSSCHE, H. (Ed.) *The Host Invader Interplay*. New York: Elsevier, North-Holland Biomedical Press, 1980.

SHER, A. et al. Interleukin 5 is required for the blood and tissue eosinophilia but not granuloma formation induced by infection with *Schistosoma mansoni. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 87: 61-65, 1990.

SILVA, C. L. et al. Increased reactivity to 5-hydroxyptamine of portal veins from mice infected with *Schistosoma mansoni*. *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 120: 417-423, 1998.

SILVA, C. L. et al. Cellular mechanisms involved in the increased contractions of portal veins from *Schistosoma mansoni*-infected mice. *Parasitology Research*, 89: 16-22, 2003.

SILVA, L. C. F. Proteoglycans and glycosaminoglycans synthesized by the hepatic granulomas isolated from schistosome-infected mice and by a granuloma-derived connective tissue cell line. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* , 27: 2.283-2.300, 1994.

SILVA, L. C. F.; MOURÃO, P. A. S. & BOROJEVIC, R. Patterns of sulfated glycosaminoglycan synthesis and accumulation in hepatic granulomas induced by *Schistosoma* infection. *Experimental and Molecular Pathology*, 50: 411-420, 1989.

SILVA, L. M. *Estudo sobre a Patogenia da Fibrose Hepática Periportal na Esquistossomose de Camundongo*, 2003. Tese de Doutorado, Salvador: Curso de Pós-Graduação em Patologia, Universidade Federal da Bahia.

SILVA, L. M.; OLIVEIRA, C. N. & ANDRADE, Z. A. Experimental neuroschistosomiasis: inadequacy of the murine model. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97: 599-600, 2002.

SILVA, M. S. et al. Significance of schistosomal granuloma modulation. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95: 353-361, 2000.

SILVA, T. M. C. *Patologia da Esquistossomose na Infecção Natural de Roedores Silvestres* (Nectomys sp), 1984. Dissertação de Mestrado, Salvador: Curso de Pós-Graduação em Patologia, Universidade Federal da Bahia.

SILVA, T. M. C. & ANDRADE, Z. A. Infecção natural de roedores silvestres pelo *Schistosoma mansoni*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 84: 227-235, 1989.

SMITH, M. A. Radioassays for the proteolytic enzyme secreted by living eggs of *Schistosoma mansoni. International Journal for Parasitology*, 4: 681-683, 1974.

SMITHERS, S. R. & DOENHOFF, M. J. Schistosomiasis. In: COHEN, S. & WARREN, K. S. (Eds.) *Immunology of Parasitic infections*. 2. ed. Oxford: Blackwell Scientific publications, 1976.

SOMMER, P. et al. Transient expression of lysil oxidase by liver myofibroblasts in murine schistosomiais. *Laboratory Investigation*, 69: 460-470, 1993.

SONG, S. H. et al. Expression of subtypes of somatostatin receptors in hepatic stellate cells. *World Journal of Gastroenterology*, 10: 1.663-1.665, 2004.

SOUZA VIDAL, M. R. F.; BARBOSA JR., A. A. & ANDRADE, Z. A. Experimental pulmonary schistosomiasis: lack of morphological evidence of modulation in schistosomal pulmonary granulomas. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 35: 423-429, 1993.

STADECKER, M. J. et al. The immunobiology of Th1 polarization in high-pathology schistosomiasis. *Immunological Reviews*, 201: 168-179, 2004.

STAVITSKY, A. B. Regulation of granulomatous inflammation in experimental models of schistosomiasis. *Infection and Immunity*, 72: 1-12, 2004.

STEINBERG, M. S. Reconstruction of tissues by dissociated cells. Some morphogenetic tissue movements and the sorting out of embryonic cells may have a common explanation. *Science*, 141: 401-408, 1963.

STEINBERG, M. S. Adhesion in development: an historical overview. *Development Biology*, 180: 377-388, 1996.

STENFELDT, A. L. & WENNERAS, C. Danger signals derived from stressed and necrotic epithelial cells activate human eosinophils. *Immunology*, 112: 605-614, 2004.

STENGER, R. J.; WARREN, K. S. & JOHNSON, E. A. An electron microscopic study of the liver parenchyma and schistosome pigment in murine hepatosplenic schistosomiasis mansoni. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 16: 473-482, 1967.

SUTTER, M. C. The mesenteric-portal vein in research. *Pharmacological Reviews*, 42: 287-325, 1990.

SWARTZ, J. M. et al. Plasminogen activator inhibitor-2 (PAI-2) in eosinophilic leukocytes. *Journal of Leukocyte Biology*, 76: 812-819, 2004.

SWARTZ, J. M. et al. *Schistosoma mansoni* infection in eosinophil lineage-ablated mice. *Blood*, 108: 2.420-2.427, 2006.

TAKAI, T. et al. FcRgamma chain deletion results in pleiotropic effector cell defects. *Cell*, 76: 519-529, 1994.

TAYLOR, M. G.; DENHAM, D. & NELSON, G. S. Observations on the resistance to schistosome infection on neonatal mice born to immune mothers with a demonstration of increased resistance in lactating mice. *Journal of Helminthology*, 65: 223-228, 1971.

TEMKIN V. et al. Eosinophil major basic protein: first identified natural heparanase-inhibiting protein. *Journal of Allergy and Clinical Immunology,* 113: 703-709, 2004.

THEISE, N. D. et al. Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation. *Hepatology*, 31: 235-240, 2000.

THIONGO, F. W. et al. Host-parasite relationships in infections with two Kenyan isolates of *Shistosoma mansoni* in NMRI mice. *The Journal of Parasitology*, 83: 330-332, 1997.

TILG, H. & MOSCHEN, A. R. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nature Reviews. Immunology*, 6: 772-783, 2006.

TOKITA, D. et al. Liver sinusoidal endothelial cells contribute to alloreactive T-cell tolerance induced by portal venous injection of donor splenocytes. *Transplant International*, 18: 237-245, 2005.

TORRES, M. & PINTO, C. Lesões produzidas pelo *S. mansoni* no tatu (*E. sexcinctus*), mecanismo de eliminação dos ovos e sensibilidade da espécie animal nas infecções experimentais. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 43: 301-348, 1945.

TOWNES, P. L. & HOLTFRETER, J. Directed movements and selective adhesion of embryonic amphibian cells. *The Journal of Experimental Zoology*, 128: 53-120, 1955.

TRAYHURN, P. et al. Hormonal and neuroendocrine regulation of energy balance- the role of leptin. *Archive für Tierernährung*, 51: 177-185, 1998.

TROP, S. et al. Liver-associated lymphocytes expressing NK1.1 are essential for oral immune tolerance induction in a murine model. *Hepatology*, 29: 746-755, 2003.

TROTTEIN, F. et al. *Schistosoma mansoni* activates host microvascular endothelial cells to acquire an anti-inflammatory phenotype. *Infection and Immunity*, 67: 3.403-3.409, 1999a.

TROTTEIN, F. et al. *Schistosoma mansoni* schistosomula reduce E-selectin and VCAM-1 expression in TNF-alpha-stimulated lung microvascular endothelial cells by interfering with the NF-kappaB pathway. *European Journal of Immunology*, 29: 3.691-3.701, 1999b.

TRUDEN, J. L. & BOROS, D. L. Collagenase, elastase and nonspecific protease production by vigorous or immunomodulated liver granulomas and granuloma macrophages/eosinophils of *S. mansoni*-infected mice. *The American Journal of Pathology*, 121: 166-175, 1985.

UENO, T. et al. Hepatic stellate cells and intralobular innervation in human liver cirrhosis. *Human Pathology*, 28: 953-959, 1997.

VALADARES, T. E. & PEREIRA, L. H. Haematuria in experimental schistosomiasis mansoni. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 77: 350-353, 1983.

VAN DER KLEIJ, D. et al. A novel host-parasite lipid cross-talk. Schsitosomal lyso-phosphatidylserine activates toll-like receptor 2 and affects immune polarization. *The Journal of Biological Chemistry*, 277: 48.122-48.129, 2002.

VAN MARCK, E. A.; DEELDER, A. M. & GIGASE, P. L. Effect of partial portal vein ligation on immune glomerular deposits in *Schistosoma mansoni*-infected mice. *British Journal of Experimental Pathology*, 58: 412-417, 1977.

VAN NASSAUW, L. et al. Role of reactive nitrogen in neuronal cell damage dirung intestinal schistosomiasis. *Cell and Tissue Research*, 303: 329-336, 2001.

VAN RIJT, L. S. et al. Airway eosinophils accumulate in the mediastinal lymph nodes but lack antigen-presenting potential for naïve T cells. *The Journal of Immunology*, 171: 3.372-3.378, 2003.

VARILEK, G. W.; WEINSTOCK, J. V. & PANTAZIS, N. J. Isolated hepatic granulomas from mice infected with *Schistosoma mansoni* contain nerve growth factor. *Infection and Immunity*, 59: 4.443-4.449, 1991.

VARILEK, G. W. et al. Alteration of the intestinal innervation in mice infected with *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology*, 77: 472-478, 1991.

VASCONCELOS, M. J. E. *Pensamento Sistêmico*: *o novo paradigma da Ciência*. 2. ed. Campinas: Papirus, 2003.

VASSILOPOULOS, G.; WANG, P. R. & RUSSEL, D. W. Transplanted bone marrow regenerates liver by cell fusion. *Nature*, 422: 901-904, 2003.

VENGESA, P. B. & LEESE, H. J. Sugar absortion by the mouse small intestine following infection with *Schsitosoma mansoni*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 73: 55-60, 1979.

VIEIRA, L. Q. & MORAES-SANTOS, T. Schistosomiasis mansoni: evidence for as milder response in germfree mice. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 29: 37-42, 1987.

VIEIRA, L. Q.; MORAES-SANTOS, T. & VIEIRA, E. C. Alterations in cell number, size and collagen content in livers of conventional and germfree mice bearing *Schistosoma mansoni*. *Progress in Clinical and Biological Research*, 181: 235-238, 1985.

VON LICHTENBERG, F. Studies on granuloma formation. III. Antigen sequestration and destruction in the schistosome pseudotubercle. *The American Journal of Pathology*, 45: 75-93, 1964.

VON LICHTENBERG, F.; SADUN, E. H. & BRUCE, J. I. Renal lesions in *Schistosoma japonicum* infected rabbits. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 66: 505-507, 1972.

WALDROP, M. *Complexity: the emerging science at the edge of order and chaos*. New York: A Touchstone Book, 1992.

WANG, X. et al. Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. *Nature*, 422: 897-901, 2003.

WARREN, K. S. The contribution of worm burden and host response to the development of hepatosplenic schistosomiasis mansoni. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 12: 34-39, 1963.

WARREN, K. S. The pathogenesis of 'clay-pipe stem cirrhosis' in mice with chronic schistosomiasis mansoni, with a note on the longevity of the schsitosomes. *The American Journal of Pathology*, 49: 477-489, 1966.

WARREN, K. S. Pathophysiology and pathogenesis of hepatosplenic schistosomiasis mansoni. *Bulletin of the New York Academy of Medicine*, 44: 280-294, 1968.

WARREN K. S. The immunopathogenesis of schistosomiasis: a multidisciplinary approach. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene,* 66: 417-434, 1972.

WARREN, K. S.; DOMINGO, E. O. & COWAN, R. B. T. Granuloma formation around schistosome eggs as a manifestation of delayed hypersensitivity. *The American Journal of Pathology*, 51: 735-756, 1967.

WATER, R. et al. *Schistosoma mansoni*: ultrastructural localization of the circulating anodic antigen and the circulating cathodic antigen in the mouse kidney glomerulus. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 38: 87-124, 1988.

WAUTERS, M.; CONSIDINE, R. V. & VAN GAAL, L. F. Human leptin: from an adipocyte hormone to an endocrine mediator. *European Journal of Endocrinology*, 143: 293-311, 2000.

WEAVER, W. Science and complexity. *American Scientist*, 36: 535, 1948.

WEILLER-NORMANN, C. & REHERMANN, B. The liver as an immunological organ. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 19: S279-S283, 2004.

WEINMANN, C. J. Experimental infection of neonatal mice born of mothers infected wit *S. mansoni*. *The Journal of Parasitologyogy*, 46: 854, 1960.

WEINSTOCK, J. V. & BOROS, D. L. Heterogeneity of the granulomatous response in the liver, colon, ileum, and ileal Peyer's patches to schistosome eggs in murine schistosomiasis mansoni. *The Journal of Immunology*, 127: 1.906-1.909, 1981.

WEINSTOCK, J. V. & BOROS, D. L. Organ-dependent differences in composition and function observed in hepatic and intestinal granulomas isolated from mice with schistosomiasis mansoni. *The Journal of Immunology*, 130: 418-422, 1983.

WEINSTOCK, J. V.; CHENSUE, S. W. & BOROS, D. L. Modulation of granulomatous hypersensitivity. V. Participation of histamine receptor positive and negative lymphocytes in the granulomatous response of *Schistosoma mansoni*-infected mice. *The Journal of Immunology*, 130: 423-427, 1983.

WEINSTOCK, J. et al. Immunoregulation within the granulomas of murine schistosomiasis mansoni. *Microbes and Infection*, 1: 491-498, 1999.

WIKIPEDIA. The free encyclopedia. Disponível em: <en.wikipedia.org>. Acesso em: 2006.

WILLIAMS, D. L. et al. Murine immune responses to a novel schistosome egg antigen, SmEP25. *International Journal for Parasitology*, 35(8): 875-882, 2005.

WOLFRAM, S. *Cellular Automata and Complexity*. New York: Addison-Wesley Publishing Company, 1994.

WOLOWCZUK, I. et al. Interleukin-7 in the skin of *Schistosoma mansoni*-infected mice is associated with a decrease in interferon-³ production and leads to an aggravation of the disease. *Immunology*, 91: 35-44, 1997.

WYNN, T. A. & CHEEVER, A. W. Cytokine regulation of granuloma formation in schistosomiasis. *Current Opinion in Immunology*, 7: 505-511, 1995.

WYNN, T. A. et al. Analysis of cytokine mRNA expression during primary granuloma formation induced by eggs of *Schistosoma mansoni. The Journal of Immunology*, 151: 1.430-1.440, 1993.

WYNN, T. A. et al. An IL-12 based vaccination method for preventing fibrosis induced by schistosome infection. *Nature*, 376: 594-596, 1995.

WYNN, T. A. et al. Interleukin-10 regulates liver pathology in acute murine schistosomiasis mansoni but is not required for immune down-modulation of chronic disease. *The Journal of Immunology*, 160: 4.473-4.480, 1998.

XUE, C. et al. Isolated hepatic cholinergic denervation impairs glucose and glycogen metabolism. *Journal of Surgical Research*, 90: 19-25, 2000.

YAMADA, Y. et al. Cloning and functional characterization of a family of human and mouse somatostatin receptors expressed in brain, gastrointestinal tract, and liver. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 89: 251-255, 1992.

YAMASHITA, T. & BOROS, D. L. IL-4 influences IL-2 production and granulomatous inflammation in murine schistosomiasis mansoni. *The Journal of Immunology*, 149: 3.659-3.664, 1992.

YAP, G. et al. Unimpaired down-modulation of the hepatic granulomatous response in CD8T cell and IFN-ã deficient mice chronically infected with *Schistosoma mansoni. Infection and Immunity*, 65: 2.583-2.586, 1997.

ZAKY, A. A study of pancreatic functions in cases of bilharzial hepatolienal fibrosis. *The Alexandria Medical Journal*, 6: 623-630, 1960.

ZHANG X. et al. Telomere shortening and apoptosis in telomerase-inhibited human tumor cells. *Genes & Development,* 13: 2.388-2.399, 1999.

ZHU, Y.; LUKACS, N. W. & BOROS, D. L. Cloning of Th0 and Th2 type helper lymphocytes from liver granulomas of *Schistosoma mansoni*-infected mice. *Infection and Immunity*, 62: 994-999, 1994.

ZUSSMAN, R. A.; BAUMAN, P. M. & PETRUSKA, J. C. The role of ingested hemoglobin in the nutrition of *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology*, 56: 75-79, 1970.

20 Patologia da Esquistossomíase na Má-Nutrição: uma visão abrangente

Eridan de Medeiros Coutinho

Camundongos albinos *Swiss* da mesma idade e peso ao desmame, infectados com *Schistosoma mansoni*. As dietas I e II eram hipoprotéicas, contendo proteína de baixo valor biológico (9% e 7%, respectivamente); as dietas III e IV também eram hipoprotéicas, contendo proteína de alto valor biológico, nas mesmas concentrações; a dieta V continha proteína de alto valor biológico (22% de caseína) e era normoprotéica. Observar as diferenças quanto ao tamanho dos animais e aspecto dos pêlos, em comparação com o camundongo-controle da dieta V.

Apesar dos significativos avanços obtidos no estudo da esquistossomíase (particularmente, a variedade mansônica) em seus diferentes aspectos e dos conhecimentos adquiridos quanto a sua imunologia e imunopatologia, as relações existentes entre esquistossomíase e má-nutrição ainda não se acham completamente esclarecidas. Resultados por vezes conflitantes encontrados na literatura pertinente podem ser creditados: às diferentes abordagens metodológicas (predominância de estudos do tipo transversal, amostras de tamanho inadequado); a observações recolhidas em áreas de baixa prevalência de má-nutrição ou de baixa endemicidade e/ou baixa morbidade por *Schistosoma*; a variações no predomínio das formas clínicas dos pacientes estudados (influenciando o tipo e a severidade do quadro nutricional associado); à fase de evolução da doença (aguda, crônica) em que o problema foi investigado; a observações em modelos experimentais diferentes (camundongo, rato, coelho, macaco); à utilização de variadas espécies e cepas de *Schistosoma* e a dificuldades na transposição, para o homem, dos resultados obtidos com os modelos experimentais.

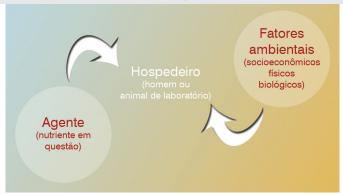
Todavia, a coexistência de desnutrição (forma mais freqüente de má-nutrição) e de esquistossomíase ocupando as mesmas áreas geográficas em diferentes regiões do mundo onde a parasitose é endêmica, representa motivo suficiente para que o estudo dessas inter-relações continue a ser aprofundado, considerando-se serem ambos importantes problemas de saúde pública para as comunidades atingidas. Por outro lado, a disseminação da esquistossomíase em centros urbanos, provocando o aparecimento de novos perfis epidemiológicos, tem levado a uma crescente valorização das causas dessa expansão e à constatação da importância não somente de fatores de ordem biológica, como também de fatores de ordem social e econômica, política e cultural no estudo da história natural da doença, fatores estes com reflexos sobre o estado nutricional do hospedeiro.

O lançamento da 'Teoria dos Sistemas Gerais' (Von Bertalanffy, 1951), como doutrina universal de integração e organização, levou a sua posterior aplicação à biologia, passando-se a considerar os seres vivos sistemas biológicos inseridos, por sua vez, num sistema maior – o seu ecossistema. Sendo assim, o estado de saúde ou doença de um indivíduo, num determinado momento, é a resultante das condições do seu ecossistema (ambiente, natureza) e da capacidade adaptativa do seu organismo ou sistema menor.

A aplicação da Teoria dos Sistemas Gerais ao estudo das doenças parasitárias traz implícita, pela própria definição de sistema, a idéia de inter-relacionamento entre as partes e, portanto, modificações que ocorram em um subsistema (parasito, hospedeiro, meio ambiente) terão repercussão e influência sobre os demais (Ferreira, 1973). Também é fato conhecido que agentes infecciosos e parasitários existentes no meio ambiente atuam, na maior parte das vezes, sinergicamente com a desnutrição do próprio hospedeiro (Scrimshaw, 1975). A imprescindível interação do hospedeiro com o seu meio ambiente torna o organismo desse hospedeiro alvo não apenas da agressão de agentes infecciosos e parasitários, como também da desnutrição que nele se instala por causas variadas (indisponibilidade do alimento por produção insuficiente, alto custo, condições de cultivo tecnicamente inadequadas).

ASPECTOS HISTÓRICOS E RELEVÂNCIA

Os estudos sobre as interações existentes entre desnutrição e doenças infectoparasitárias começaram a ser explorados em meados do século XX, particularmente ao serem analisadas as conseqüências da fome e das más condições de vida das populações européias após a Primeira e a Segunda Guerras Mundiais, com a eclosão de epidemias e o agravamento de várias doenças. Esses estudos, intensificados a partir da década de 1940 (para melhor entendimento, consultar a hoje clássica monografia de Scrimshaw, Taylor & Gordon, 1970), desenvolveram-se paralelamente ao extraordinário avanço que a ciência da nutrição experimentou em relação ao conhecimento da bioquímica e da fisiologia dos principais nutrientes e de seu valor para a manutenção da saúde. Por outro lado, a introdução do conceito de multicausalidade nas doenças infectoparasitárias e a valorização dos determinantes ecológicos das doenças muito contribuíram para a compreensão das relações hospedeiro/parasito (Coutinho, 1985) (Figura 1).

Figura 1 – Cadeia epidemiológica das doenças nutricionais, baseada na Teoria dos Sistemas e no conceito epidemiológico de multicausalidade das doenças (Coutinho, 1985)

É importante assinalar, como já foi visto em capítulos anteriores, que a esquistossomíase é responsável não apenas pela morbidade provocada pela parasitose (lesões no sistema urinário, no caso da esquistossomíase provocada por *Schistosoma haematobium*; e no sistema digestório, no caso das esquistossomíases causadas por *S. mansoni*, *S. japonicum* e *S. mekongi*), podendo levar a óbito em decorrência do desenvolvimento de neoplasias malignas no trato urinário (esquistossomíase urinária) ou de hemorragias digestivas associadas a hipertensão venosa do sistema portal (esquistossomíases intestinais). É fácil, portanto, imaginar os reflexos que estas patologias podem ter sobre o estado nutricional do hospedeiro vertebrado e, por outro lado, avaliar os efeitos causados pela desnutrição do hospedeiro sobre parasitos de hábitat endovascular, como é o caso dos esquistossomos. Também é fato conhecido que o poliparasitismo encontrado em muitas zonas endêmicas pode resultar em interações entre parasitos diferentes, capazes de modificar o estado nutricional do hospedeiro (Tshikuka et al., 1997).

De há muito se especula que o estado nutricional provavelmente se inclui entre os fatores capazes de determinar as conseqüências da infecção (Newport & Colley, 1993) e a variabilidade na resposta imune do hospedeiro. Estudos epidemiológicos e clínicos sugerem que as deficiências nutricionais alteram a imunocompetência e aumentam o risco de infecção, sendo a desnutrição reconhecida como um determinante fundamental da resposta imune e como causa mais freqüente de imunodeficiência no mundo (Chandra,

1997). A deficiência energético-protéica (forma mais importante de desnutrição), por exemplo, tem sido associada a distúrbios da imunidade celular, da fagocitose, do sistema complemento, da concentração de IgGA secretória e da produção de citocinas (Stephenson, Latham & Ottesen, 2000).

Para avaliar o impacto das doenças, inclusive infectoparasitárias, sobre a saúde das populações atingidas, foi introduzido o cálculo do Daly (*disability-adjusted life-years lost*), indicador quantitativo da carga provocada pela doença sobre o indivíduo e que reflete a quantidade total de vida saudável perdida em conseqüência de morte prematura ou de qualquer grau de incapacidade física ou mental causada pela doença, durante certo período de tempo (Homedes, 1995). O Daly calculado para algumas infecções parasitárias pode ser visto na Tabela 1, onde as esquistossomíases aparecem com uma perda de anos-vida equivalente a 4,5 milhões, em relação à estimativa de uma população mundial de duzentos milhões de indivíduos infectados (WHO, 1998). Tal estimativa, embora não possa ser acurada, é importante para o embasamento de decisões governamentais quanto à dotação de recursos para a saúde, geralmente escassos em países subdesenvolvidos, e para motivar as autoridades competentes quanto à priorização da saúde como instrumento fundamental para o desenvolvimento sustentável do país.

Tabela 1 – Estimativa para o Daly (*disability-adjusted life-years lost*) de algumas infecções parasitárias

Causa de incapacidade/mortalidade precoce	Perda de anos-vida (milhões)
Helmintíases intestinais em geral	39,0
Ancilostomídeos	22,1
Ascaris lumbricoides	10,5
Trichuris trichiura	6,4
Esquistossomíases	4,5

Fonte: adaptada de Stephenson et al. (2000).

A importância do estudo das inter-relações entre esquistossomíase e má-nutrição apóia-se nas seguintes premissas básicas:

- Prevalência elevada da esquistossomíase em áreas onde também ocorrem diferentes doenças da nutrição (desnutrição energético-protéica, anemias nutricionais etc.).
- Maior incidência da infecção entre as idades de três e oito anos, com pico de prevalência e intensidade ocorrendo no grupo etário de dez a trinta anos (Newport & Colley, 1993), grupos populacionais (sobretudo o primeiro) reconhecidamente mais vulneráveis à má-nutrição.
- Manifestações clínico-patológicas comprometendo, sobretudo, o trato digestório e glândulas anexas (no caso das esquistossomíases intestinais), com evidentes repercussões sobre o processo fisiológico da nutrição.

Mecanismos pelos quais o Parasitismo pode afetar o Estado Nutricional do Hospedeiro

As repercussões do parasitismo por *Schistosoma* sobre o estado nutricional do hospedeiro vertebrado ocorrem por quatro mecanismos fundamentais: redução da ingestão de nutrientes devido à anorexia ou falta de apetite; redução na absorção dos nutrientes pelo trato gastrointestinal (em conseqüência das lesões da parede do intestino, com redução de enzimas digestivas e aceleração do trânsito intestinal);

redução na utilização dos nutrientes (por distúrbios do metabolismo e do transporte de nutrientes, sobretudo decorrentes de lesão hepática nas formas graves); e, por último, excreção anormal de nutrientes e eletrólitos (particularmente, nos casos de glomerulopatia esquistossomótica).

EFEITOS DO PARASITISMO SOBRE O ESTADO NUTRICIONAL E CONDIÇÕES DE SAÚDE DO HOSPEDEIRO

No Homem

A patologia humana das inter-relações esquistossomíase/má-nutrição tem sido investigada apenas *sensu lato*, em estudos predominantemente transversais, baseados nos aspectos clínico-nutricionais de populações residentes em áreas endêmicas, em estudos metabólicos e em medidas antropométricas. Embora tenha limitações ligadas à técnica em si e ao observador, o exame clínico-nutricional, segundo Jelliffe (1968), é de validade indiscutível quando praticado em amostras populacionais adequadas e seguindo os critérios preconizados pelos peritos da Organização Mundial da Saúde (OMS). Em razão da forma como se desenvolvem as doenças carenciais, as alterações anatômicas ou clínicas são as últimas a serem detectadas, sendo essas alterações geralmente pouco freqüentes nas populações parasitadas. Determinações bioquímicas dos nutrientes feitas em sangue ou urina, por aparecerem mais precocemente, provavelmente surpreenderiam um maior número de indivíduos desnutridos, porém em trabalhos de campo o método enfrenta dificuldades de ordem técnica e devido ao elevado custo dos reagentes necessários. Resta, então, o método antropométrico (peso corporal, altura, espessura da prega cutânea tricipital, perímetro braquial etc.), considerado de maior exatidão, de baixo custo e no qual se acha baseada a maioria dos trabalhos registrados na literatura pertinente.

As principais alterações que o parasitismo por *Schistosoma* pode provocar no estado nutricional do hospedeiro vertebrado dizem respeito à redução do crescimento e do desenvolvimento (crianças pré-escolares e escolares) e balanço energético negativo (adultos), com conseqüente redução da atividade física e da produtividade do hospedeiro (Van EE & Polderman, 1984; El Karim, 1986; Barbosa & Pereira, 1981).

Uma correlação positiva tem sido encontrada entre anemia e esquistossomíase, em crianças escolares com parasitismo intenso por *S. haematobium* (Prual et al., 1992; Befidi et al., 1993). As esquistossomíases, tanto urinárias como intestinais, podem se associar a perdas sanguíneas de até 6 mg de ferro/dia, nas infecções crônicas intensas (Crompton, 1986; Prual et al., 1992). Além disso, estudos em pacientes com esse tipo de infecção registram elevadas perdas de albumina (2.2g/dia), zinco e vitamina A pelas fezes (Stephenson, 1986).

Quanto ao parasitismo por *S. japonicum*, também existem indicativos de prejuízo ao estado nutricional do hospedeiro quanto à ocorrência de anemia (McGarvey et al., 1996), a exemplo do que acontece nos parasitismos por *S. haematobium* e *S. mansoni*.

Como doenças sistêmicas causadoras de anemia, as esquistossomíases provocadas por *S. haematobium*, *S. mansoni* e *S. japonicum* podem ter graves repercussões em mulheres grávidas, de modo análogo ao que ocorre no parasitismo por ancilostomídeos (Stephenson, 1987). Macro e micronutrientes (particularmente, ferro e folato) acham-se envolvidos na anemia encontrada em mulheres infectadas (Steketee, 2003), grupo onde este tipo de desnutrição por deficiência específica assume maior gravidade.

Em que pese a diversidade dos resultados encontrados, no estado atual dos conhecimentos os dados já obtidos sugerem que o parasitismo por *Schistosoma* contribui para agravar uma desnutrição preexistente (Coutinho, 1979/1980) e que a morbidade relacionada com a parasitose pode levar a uma subseqüente alteração do estado nutricional do hospedeiro (Corbett et al., 1992). Nas Tabelas 2 e 3, referentes a estudos realizados em populações de duas diferentes áreas endêmicas de Pernambuco (Brasil), pode-se verificar que a maior percentagem de desnutridos geralmente é detectada no grupo de indivíduos comprovadamente infectados por *S. mansoni* (Coutinho, 1985; Coutinho et al., 1997a).

Tabela 2 – Distribuição de amostra populacional de São Lourenço da Mata (Pernambuco, Brasil) em relação à positividade ou não para *Schistosoma mansoni* e à ocorrência de desnutrição baseada na relação peso/altura deficiente associada a sinais clínicos de carência (segundo Coutinho, 1985)

Grupos de idade (anos)	Positivos para *S. mansoni*			Negativos para *S. mansoni*		
	Total de examinados	Desnutridos		Total de examinados	Desnutridos	
		Nº	%		Nº	%
1-5	41	24	58,5	53	19	35,8
6-14	145	65	44,8	36	5	13,9
15 e +	217	85	39,2	11	2	18,2
Total	403	174	43,2	100	26	26,2

Tabela 3 – Prevalência de infecção pelo *Schistosoma mansoni* de acordo com o estado de nutrição (índice altura/idade), em pacientes menores de 18 anos de idade em Tracunhaém, Pernambuco, Brasil (segundo Coutinho et al., 1997a)

Infecção pelo *S. mansoni*	Desnutridos	Eutróficos	Total	Prevalência de desnutrição (%)
Positivos	28	23	51	54,9
Negativos	18	35	53	34,0
Total	46	58	104	44,2

A existência de uma síndrome de má-absorção em pacientes com a forma hepatoesplênica da esquistossomíase mansônica foi sugerida por El-Rooby et al. (1963), Souidan et al. (1979) e Machado et al. (1993). Embora um certo grau de disfunção digestivo-absortiva da mucosa do intestino delgado possa ocorrer em alguns pacientes portadores das formas graves da parasitose, a capacidade absortiva acha-se razoavelmente preservada na maioria dos indivíduos infectados (Mott, Neves & Bettarello, 1971; Pucci et al., 1978). Estudos morfométricos realizados em biopsias de mucosa jejunal humana, todavia, mostraram a existência, em alguns pacientes, de alterações estruturais compatíveis com uma disfunção absortiva (Nigro et al., 1984; Penna & Brasileiro Filho, 1988), havendo, contudo, possibilidade de reversão ao padrão normal da mucosa após cirurgia de redução da pressão portal (Machado et al., 1996).

A evolução dos conhecimentos sobre as repercussões do parasitismo por *S. mansoni* (espécie de maior interesse por ser a única encontrada no Brasil) sobre o estado nutricional do hospedeiro humano acha-se sumariada no Quadro 1.

Quadro 1 – Efeitos do parasitismo por *Schistosoma mansoni* sobre o estado de nutrição e condições de saúde do hospedeiro humano

Efeitos Observados	Hospedeiro	Tipo de Dieta	Autores
Ausência de correlação entre esquistossomíase e anemia	Homem (adultos)	Usual	Walker, Fletcher & Traill, 1954.
Correlação entre carência alimentar e anemia na esquistossomíase	Homem	Usual	Pessoa, 1956.
Pequenas diferenças entre esquistossomóticos e não esquistossomóticos, quanto à ocorrência de anemia	Homem	Usual	Walker, 1956.
Aumento da excreção fecal de gorduras	Homem	Usual	El-Rooby et al., 1963.
Melhoria dos indicadores bioquímicos e hematológicos; resposta ao tratamento esquistossomicida por antimonial, sendo mais precoce e com menos efeitos colaterais	Homem	Enriquecida (proteínas)	DeWitt, Oliver-González & Medina, 1964.
Correlação entre carência alimentar e anemia na esquistossomíase	Homem	Usual	Jamra, Maspes & Meira, 1964.
Menor eficácia do tratamento esquistossomicida	Homem	Vegetariana	Bell, 1964.
Ausência de associação entre esquistossomíase e estado nutricional	Homem	Usual	Whittle et al., 1969.
Discreto aumento da excreção fecal de gorduras	Homem	Usual	Mott, Neves & Bettarello, 1971
Ausência de alterações significativas quanto a níveis de hemoglobina, sinais clínico-nutricionais e medidas antropométricas, em população com predominância de formas clínicas leves	Homem (crianças)	Usual	Coutinho et al., 1972.
Ausência de associação entre esquistossomíase e estado nutricional	Homem (crianças escolares)	Usual	Cook et al., 1974.
Ausência de associação entre esquistossomíase e estado nutricional	Homem (crianças, adultos)	Usual	Lehman et al., 1976.
Ausência de associação entre esquistossomíase e estado nutricional	Homem	Usual	Hiatt & Gebre-Medhin, 1977.
Ausência de má-absorção intestinal	Homem	Usual	Pucci et al., 1978.
Aumento da excreção fecal de gorduras	Homem	Usual	Souidan et al., 1979.
Redução da produtividade por maior dispêndio de energia, em trabalhadores da zona da cana de açúcar (Nordeste do Brasil)	Homem	Usual	Barbosa & Pereira, 1981.
Implicações nutricionais relacionadas ao impacto da nutrição sobre a resposta imune do hospedeiro	Homem (crianças, adultos)	Usual	Akpom, 1982.

Quadro 1 – Efeitos do parasitismo por *Schistosoma mansoni* sobre o estado de nutrição e condições de saúde do hospedeiro humano (continuação)

Efeitos Observados	Hospedeiro	Tipo de Dieta	Autores
Efeito negligenciável sobre a capacidade de trabalho (mineiros)	Homem	Usual	Van EE & Polderman, 1984.
Alterações estruturais na mucosa do jejuno	Homem	Usual	Nigro et al., 1984.
Maior número de indivíduos desnutridos e maior prevalência de sinais clínicos de desnutrição entre indivíduos parasitados	Homem (crianças, adultos)	Usual	Coutinho,1985.
Maior dispêndio de energia/24h em trabalhadores rurais infectados	Homem	Usual	El Karim, 1986.
Resultados inconclusivos quanto à anemia nutricional, crescimento e adequação física (revisão)	Homem	Usual	Stephenson, 1986.
Associação entre intensidade da infecção, medidas antropométricas reduzidas e esplenomegalia	Homem (crianças escolares)	Usual	Lima & Costa et al., 1988.
Alterações estruturais na mucosa do jejuno	Homem	Usual	Penna & Brasileiro Filho, 1988.
Ausência de associação entre estado nutricional e intensidade da infecção/esquistossomíase clínica, em área de baixa freqüência e baixa morbidade da parasitose	Homem	Usual	Proietti et al., 1992.
Associação positiva entre intensidade da infecção e hepatomegalia, repercutindo negativamente sobre o estado nutricional	Homem (crianças escolares)	Usual	Corbett el al., 1992.
Efeitos positivos sobre vários indicadores do estado nutricional (crescimento, apetite, atividade etc.), após tratamento antiparasitário em nível de comunidade	Homem	Usual	Stephenson, 1993.
Alterações da excreção fecal de gorduras em pequena freqüência	Homem	Usual	Machado et al., 1993.
Correlação positiva entre crescimento/desenvolvimento e intensidade da infecção, apenas no sexo masculino (infecções leves/moderadas)	Homem (crianças escolares)	Usual	Parraga et al., 1996.
Alterações morfológicas e morfométricas na mucosa jejunal	Homem	Usual	Machado et al., 1996.
Associação do parasitismo com anemia moderada, nos indivíduos mais intensamente parasitados	Homem (crianças)	Usual	Sturrock et al., 1996.
Associação entre prevalência de esquistossomíase e má-nutrição crônica, em pacientes com menos de 18 anos de idade	Homem	Usual	Coutinho et al., 1997a.

Quadro 1 – Efeitos do parasitismo por *Schistosoma mansoni* sobre o estado de nutrição e condições de saúde do hospedeiro humano (continuação)

Efeitos Observados	Hospedeiro	Tipo de Dieta	Autores
Interação sinérgica entre infecções parasitárias em crianças com DPE; risco significantemente maior de déficit no crescimento.	Homem (crianças)	Usual	Tshikuka et al., 1997.
Associação entre infecção leve/moderada com medidas antropométricas reduzidas (sexo masculino) e sua melhoria após tratamento específico	Homem (crianças escolares)	Usual	Assis et al., 1998
Redução do crescimento físico e do fator de crescimento semelhante à insulina, em indivíduos com a forma hepatoesplênica	Homem (adolescentes)	Usual	Orsini et al., 2001

No Modelo Experimental

Os efeitos do parasitismo sobre o estado nutricional do hospedeiro experimental têm sido estudados, principalmente, no rato e no camundongo – particularmente neste último, por tratar-se de animal cuja história natural e cuja patologia da esquistossomíase muito se assemelham às do hospedeiro humano. Camundongos com várias formas de má-nutrição induzida, sobretudo desnutrição protéico-energética (DPE) ou deficiências específicas de alguns micronutrientes (particularmente vitaminas) apresentam, em linhas gerais, quando com infecção associada por *S. mansoni*, anorexia, perda de peso (Ilustração e Figura 2), redução do consumo alimentar, granulomas periovulares hiporreativos e de pequena dimensão (Figura 3), reduzida formação de tecido fibroso no fígado, além de atrofia generalizada da parede do intestino delgado, atrofia multifocal das vilosidades jejunais (Figura 4, A e B) e certo grau de disfunção quanto à absorção de proteínas (Ferreira et al., 1993) (Tabela 4). Essas alterações, contudo, são apenas discretas em camundongos eutróficos, cuja mucosa jejunal é predominantemente composta de vilosidades digitiformes (Figura 5, A e B), foliáceas ou geminadas. Nos animais desnutridos, a morfometria mostra redução da densidade de volume da parede do jejuno, em relação aos eutróficos, com valores mais baixos para os desnutridos esquistossomóticos, o que sugere resultar essa alteração do efeito sinérgico entre desnutrição e esquistossomíase, esta ultima variável potenciando os efeitos da primeira (Amorim, 2000). Além do predomínio de vilosidades foliáceas (65,7%), nos camundongos desnutridos infectados ocorre sensível redução do número de enterócitos, enquanto um significativo aumento do número de células caliciformes pode ser detectado (Couto et al., 2002). A hiperplasia de células caliciformes foi também visualizada em estudos de microscopia eletrônica de varredura, em macacos babuínos eutróficos, infectados experimentalmente (Farah & Nyindo, 1996), estando provavelmente relacionada com a própria esquistossomíase e não com o estado nutricional dos animais.

No Quadro 2 acham-se sumariadas as pesquisas registradas na literatura, que objetivaram investigar os principais efeitos do parasitismo por *S. mansoni* sobre o estado de nutrição e condições de saúde do hospedeiro experimental. Em sua maioria, são concordantes em relação aos efeitos da parasitose sobre animais com deficiência nutritiva.

Figura 2 – Evolução do peso corporal de camundongos infectados com *Schistosoma mansoni*, submetidos a desnutrição "precoce" (G1= dieta hipoprotéica/dieta balanceada) ou "tardia" (G2= dieta balanceada/dieta hipoprotéica), comparada à de seus respectivos controles (CG3 e CG4). As setas indicam o peso médio dos camundongos no momento da alternância de dieta, nos grupos G1 e G2; e a evolução das curvas de crescimento desse ponto até o final do experimento, em camundongos-controles desnutridos (CG3) e eutróficos (CG4). NUV = dieta balanceada; DBR=dieta hipoprotéica (Coutinho et al., 2003)

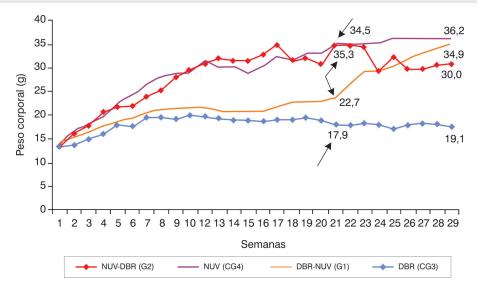



Figura 3 – Granulomas periovulares isolados, em camundongo albino *Swiss* desnutrido, com quatro meses de infecção. Col. Hematoxilina-Eosina 100X

Figura 4 – Vilosidades jejunais de camundongo desnutrido infectado, encurtadas e alargadas em decorrência de repuxamento provocado por granulomas periovulares existentes na mucosa e submucosa (A); apagamento focal do relevo vilositário (B). Col. Hematoxilina-Eosina 250X

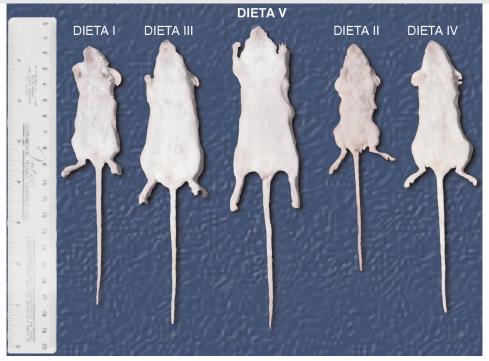
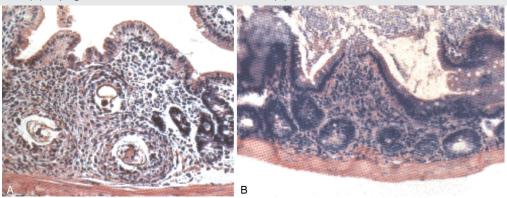



Tabela 4 – Coeficientes de absorção aparente e verdadeiro (a = calculado pelo método do ensaio biológico com dieta aprotéica; b = calculado pelo método da regressão linear), em camundongos desnutridos e controles, com ou sem infecção pelo *Schistosoma mansoni*. (segundo Ferreira et al., 1993)

Grupos	n. de camundongos	Coeficiente de absorção		
		Aparente x + DP	Verdadeiro(a) x + DP	Verdadeiro(b) x + DP
Controles (não infect.)	10	87.7± 3.2	92.4± 3.6	89.4± 2.8
Controles (infectados)	10	85.6± 6.1 Não sig.	91.0± 5.3 Não sig.	86.6± 5.9 Não sig.
Desnutridos (não infectados)	10	46.8± 12.8	54.9± 11.4	76.9± 9.9
Desnutridos (infectados)	10	25.8± 20.9 Sig. (p<0,01)	47.0± 14.3 Não sig.	58.8 ±13.5 Sig. (p<0,01)

X: média aritmética; DP: desvio padrão.

Sig: significância estatística; Não Sig: sem significância estatística.

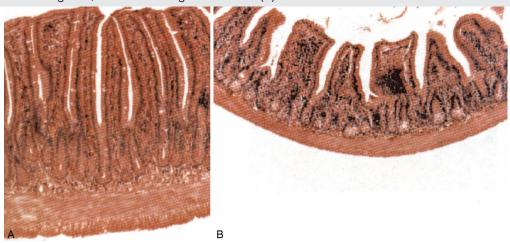
Obs.: Os estudos de absorção intestinal de proteína foram baseados na determinação do balanço nitrogenado, calculando-se o coeficiente de absorção aparente pela fómula:

$$\frac{\text{Absorção de nitrogênio}}{\text{Ingestão de nitrogênio}} \times 100$$

O coeficiente de absorção verdadeiro foi obtido após correção referente ao nitrogênio metabólico fecal (NMF), de acordo com a formula:

$$\frac{\text{Nitrogênio ingerido - (Nitrogenio fecal - Nitrogenio metabólico fecal)}}{\text{Nitrogênio ingerido}} \times 100$$

O NMF foi calculado por extrapolação através de cálculo de regressão linear, em grupo de camundongos em dieta aprotéica.

Figura 5 – Vilosidades digitiformes no jejuno de camundongo eutrófico (A); vilosidades jejunais encurtadas e alargadas, em camundongo desnutrido (B). Col. Hematoxilina-Eosina 150X

Quadro 2 – Efeitos do parasitismo por *Schistosoma mansoni* sobre o estado de nutrição e condições de saúde do hospedeiro experimental

Efeitos observados	Hospedeiro	Tipo de dieta	Autores
Ausência de interferência da infecção sobre as lesões relacionadas com a dieta deficiente	Camundongo	Deficiente em fator 3, vitamina E e cistina (levedo de Torula)	DeWitt, 1957a
Redução no número e no tamanho dos parasitos	Camundongo	Deficiente em fator 3, vitamina E e cistina (levedo de Torula)	DeWitt, 1957b
Redução na utilização das gorduras e da proteína ingeridas	Camundongo albino	Balanceada	DeWitt, 1957c
Aumento da mortalidade	Camundongo	Deficiente em metionina e triptofano	Maldonado, 1959
Redução da ingestão de alimentos e do crescimento; redução da capacidade de aprendizagem em labirinto	Rato	Balanceada	Kershaw, Leytham & Dickerson, 1959
Maior mortalidade parasitária, após tratamento com esquistossomicida antimonial	Camundongo	Dietas semi-sintéticas	Luttermoser & DeWitt, 1961
Reação inflamatória à penetração percutânea de cercárias, mais precoce e mais intensa nos animais reinfectados alimentados com dieta hiperprotéica, se comparados aos alimentados com dieta normoprotéica	Camundongo albino	Hiperprotéica (caseína)	Coutinho-Abath, 1962
Maior reatividade do sistema fagocitário mononuclear; regeneração hepática difusa em maior extensão	Camundongo albino	Hiperprotéica	Coutinho-Abath, Magalhães Filho & Barbosa, 1962

Quadro 2 – Efeitos do parasitismo por *Schistosoma mansoni* sobre o estado de nutrição e condições de saúde do hospedeiro experimental (continuação)

Efeitos observados	Hospedeiro	Tipo de dieta	Autores
Agravamento da fibrose hepática periportal	Esquilo da Mongólia (roedor do deserto)	Hipoprotéica	Hashem & Fahmy, 1962
Maior intensidade da fibrilogênese hepática	Camundongo	Hiperglicídica e hipoprotéica	Zuckerman & MacDonald, 1964
Aparecimento de cirrose perilobular precoce e intensa	Rato	Hipoprotéica	Bhattacharyya, 1965
Redução da reação granulomatosa periovular no fígado (fase aguda)	Camundongo	Hipoprotéica/ Hipercalórica	Knauft & Warren, 1969
Agravamento da fibrose hepática periportal	Esquilo da Mongólia (roedor do deserto)	Hipoprotéica	Hashem & Fahmy, 1962
Maior intensidade da fibrilogênese hepática	Camundongo	Hiperglicídica e hipoprotéica	Zuckerman & MacDonald, 1964
Aparecimento de cirrose perilobular precoce e intensa	Rato	Hipoprotéica	Bhattacharyya, 1965
Redução da reação granulomatosa periovular no fígado (fase aguda)	Camundongo	Hipoprotéica/Hipercalórica	Knauft & Warren, 1969
Parâmetros da forma hepatoesplênica menos severos nos desnutridos (fase crônica)	Camundongo	Hipoprotéica/ Hipercalórica	Akpom & Warren, 1975a
Elevada mortalidade entre os desnutridos infectados; reação inflamatória granulomatosa periovular predominantemente exsudativa; agravamento do estado de desnutrição	Camundongo albino	Básica regional (hipoprotéica)	Coutinho, 1976
Redução do número de granulomas hepáticos	Camundongo	Hiperglicídica/diabetes aloxânico	Magalhães et al., 1978
Distúrbios na cinética de transporte da glicose *in vitro*, ao nível do intestino delgado; vilosidades tumefactas, erosadas, recobertas por muco espesso e com lesões periapicais	Camundongo albino	Acrescida de D-glicose	Vengesa & Leese, 1979
Supressão da resposta imune celular e da formação do granuloma periovular	Camundongo	Hipoprotéica (4%)	Akpom, 1981
Atraso no desenvolvimento somático dos vermes	Camundongo albino	Deficiente em vitamina A	Turchetti-Maia et al., 1983
Redução do número de vermes; aumento da resistência à infecção	Hamster dourado	Suplementada com zinco	Mansour, Mikhail & Guirgis, 1983

Quadro 2 – Efeitos do parasitismo por *Schistosoma mansoni* sobre o estado de nutrição e condições de saúde do hospedeiro experimental (continuação)

Efeitos observados	Hospedeiro	Tipo de dieta	Autores
Redução do número de vermes; aumento da resistência à infecção	Hamster dourado	Suplementada com zinco	Mansour, Mikhail & Guirgis, 1983
Redução da resposta imune	Camundongo albino	Deficiente em vitamina A	Aziz et al., 1984
Redução da resposta imune humoral, sem alterações da resposta imune celular; aumento do número de vermes	Rato	Deficiente em vitamina A	Parent et al., 1984
Maior mortalidade; granulomas hepáticos periovulares em menor número e de menor tamanho; alterações da hemopoese (linfopenia, eosinopenia)	Camundongo albino	Hipoprotéica	Magalhães et al., 1986
Redução da atividade dissacaridásica intestinal	Camundongo albino	Balanceada	Sadek, Borges & Miszputen, 1986
Redução da celularidade e reação exsudativa periovular persistente (fase aguda); redução da proteína hepática e plasmática	Camundongo albino	Básica regional (hipoprotéica)	Coutinho et al., 1991
Redução do crescimento e do ganho ponderal; diminuição da resposta imune celular e humoral	Camundongo C57BL/6	Deficiente em zinco	Nawar et al., 1992
Perda de peso, redução do consumo alimentar e protéico; menor utilização da proteína dietética (fase aguda)	Camundongo albino	Básica regional (hipoprotéica)	Coutinho, Freitas & Abath, 1992
Associação entre carga cercariana infectante e curva ponderal, com severos efeitos sobre os desnutridos, mesmo em infecções de leve intensidade (vinte cercárias)	Camundongo albino	Básica regional (hipoprotéica)	Freitas et al., 1993
Ausência de alteração na utilização biológica de proteína nas infecções moderadas (quarenta cercárias); efeito negativo sobre o crescimento de eutróficos e desnutridos (fase aguda); redução da absorção protéica em hospedeiros desnutridos; nenhum efeito sobre animais eutróficos	Camundongo albino	Básica regional (hipoprotéica)	Ferreira et al., 1993
Atrofia das vilosidades jejunais observada em camundongos desnutridos infectados, que tem como causa primária a desnutrição, é descontínua e multifocal, relacionando-se com a retração do componente fibroso de granulomas subjacentes, não tendo papel importante na má-absorção protéica (fase crônica)	Camundongo albino	Básica regional (hipoprotéica)	Amorim, 2000

Quadro 2 – Efeitos do parasitismo por *Schistosoma mansoni* sobre o estado de nutrição e condições de saúde do hospedeiro experimental (continuação)

Efeitos observados	Hospedeiro	Tipo de dieta	Autores
Inibição do desenvolvimento da fibrose hepática esquistossomótica no hospedeiro desnutrido (fase crônica)	Camundongo albino	Básica regional (hipoprotéica)	Coutinho et al., 1997b
Risco de encefalopatia na administração prolongada de hidrolisado protéico a animais desnutridos	Camundongo albino	Caseína hidrolisada (N-Z-Case Plus, Sigma)	Ferreira et al., 1998
Predominância de vilosidades jejunais foliáceas ou achatadas; aumento do número de células caliciformes e redução do número de células absortivas	Camundongo albino	Básica regional (hipoprotéica)	Couto et al., 2002
Interferência sobre as alterações do colágeno (degradação, reabsorção) de granulomas hepáticos periovulares; alterações na dinâmica de remodelagem do colágeno, em hospedeiros com desnutrição tardia (fase crônica)	Camundongo albino	Balanceada/ Hipoprotéica	Coutinho et al., 2003
Redução da resposta imune humoral (IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3) no hospedeiro desnutrido; desenvolvimento de granulomas de pequeno tamanho (fase crônica)	Camundongo albino	Básica regional (hipoprotéica)	Oliveira et al., 2004
Desenvolvimento de fibrose hepática tipo pipestem em camundongos desnutridos isogênicos (cepa C57BL/10) e em camundongos não isogênicos Swiss, após reinfecções sucessivas (fase crônica)	Camundongo C57BL/(10)	Básica regional (hipoprotéica)	Coutinho, 2004

Após a ampla aceitação do camundongo como modelo experimental para estudos sobre a fibrose periportal, principal lesão da fase crônica da doença, resultados interessantes foram recentemente obtidos após indução experimental, nesse modelo animal, de um quadro clínico de desnutrição tipo marasmo (um dos pólos do espectro clínico da desnutrição protéico-energética do homem).

Camundongos *outbred* (não isogênicos) desnutridos, submetidos a infecções de pequena intensidade (trinta cercárias) e longa duração (16-20 semanas), não desenvolvem a fibrose "*pipestem*" (Coutinho et al., 1997b) encontrada em camundongos eutróficos (Warren, 1966, 1968; Andrade & Warren, 1964; Andrade, 1987; Andrade & Cheever, 1993; Andrade, Silva & Souza, 1997).

Abordagens diferentes vêm sendo utilizadas (Coutinho, 2004), na tentativa de reproduzir a lesão nos animais infectados desnutridos. A alternância de dietas (deficiente/balanceada ou balanceada/deficiente) não induziu ao aparecimento da lesão, exceto em dois camundongos com desnutrição tardia (ou seja, alimentados por vinte semanas com dieta balanceada e, em seguida, com dieta hipoprotéica por mais oito semanas). Todavia, foram observadas alterações na dinâmica do processo de deposição e reabsorção do colágeno, com atraso na reabsorção, havendo formação de granulomas periovulares fibrosos volumosos,

provavelmente formados quando os animais recebiam a primeira dieta, o que evidencia a participação de fatores relacionados ao estado nutricional do hospedeiro na gênese das alterações do tecido conjuntivo dos granulomas periovulares do fígado (Figura 6). Ainda se desconhece, porém, o modo pelo qual a desnutrição pode interferir no processo de reabsorção fibrosa (Coutinho et al., 2003).

Experiências recentes também demonstram que infecções repetidas provocam aumento da quantidade de colágeno no fígado de camundongos *outbred*, tanto eutróficos como desnutridos, o que pode ser comprovado por avaliações morfométrica e bioquímica (segundo o teor de hidroxiprolina, que é o aminoácido mais abundante no tecido colágeno). Nessas condições, a fibrose do tipo *pipestem* se desenvolve em camundongos eutróficos (Figura 7), porém não em camundongos desnutridos, apesar do comprovado aumento na concentração de tecido fibroso nestes animais (Coutinho, 2004), embora esse tecido seja menos denso do que nos camundongos que estão a ingerir dieta balanceada (Figura 8).

Figura 6 – Granuloma fibrótico de grande dimensão, em camundongo submetido a desnutrição "tardia". Observar seu tamanho, distribuição celular e disposição enovelada. Col. Picrosirius red 200X (Coutinho et al., 2003)

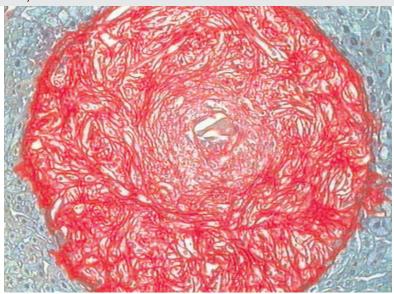



Figura 7 – Fibrose hepática periportal no modelo murino eutrófico (infecção única), com granulomas periovulares, aumento do tecido fibroso, da vascularização e da infiltração inflamatória nos espaços portais. Col. Hematoxilina-Eosina 50X

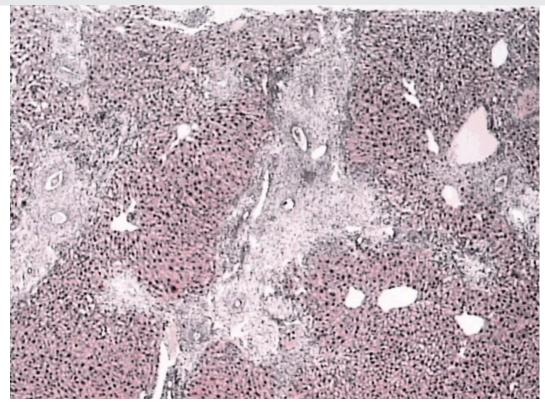
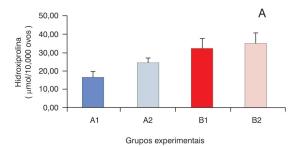
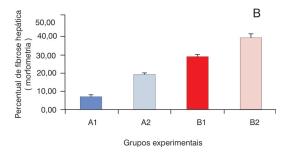



Figura 8 – Quantificação morfométrica (A) e bioquímica (hidroxiprolina) do tecido colágeno hepático(B), em camundongos desnutridos e eutróficos, submetidos a infecções únicas ou repetidas com *Schistosoma mansoni*. A1: desnutridos (infecção única); A2: eutróficos (infecção única); B1: desnutridos (infecções repetidas); B2: eutróficos (infecções repetidas)

ALTERAÇÕES METABÓLICAS NO HOMEM E EM MODELOS EXPERIMENTAIS

Alterações envolvendo tanto o metabolismo protéico como o lipídico ocorrem na esquistossomíase mansônica e em outras esquistossomíases humanas. Na primeira, as alterações bioquímicas do metabolismo protéico se expressam como redução dos valores da albuminemia, elevação das globulinas (especialmente da fração gama) e intensa positividade das provas de floculação, somente observadas em pacientes com a forma grave (hepatoesplênica) da doença (Coutinho & Loureiro, 1960; Fiorillo, 1966). Embora as alterações do metabolismo protéico sejam, de fato, as de maior importância no quadro laboratorial da esquistossomíase, o metabolismo lipídico também se altera nas formas graves da infecção esquistossomática, verificando-se hipolipemia, hipofosfolipidemia e redução da fração éster do colesterol (Coutinho-Abath, Barbosa & Amaral, 1965).

Camundongos albinos Swiss desnutridos e infectados apresentam redução das proteínas totais no soro, com hipoalbuminemia significativa, em relação aos controles infectados eutróficos. As frações alfa-1, alfa-2 e gama das globulinas séricas também se acham reduzidas nos camundongos infectados desnutridos (Coutinho et al., 1991).

Em camundongos e hamsters eutróficos, Evans & Stirewalt (1958) encontraram aumento na concentração das frações gama e beta-globulina. Em macacos Rhesus eutróficos, o estudo das proteínas séricas revelou queda da fração albumina por aumento do seu catabolismo, seis a sete semanas após o início da infecção, coincidindo com o aparecimento de ovos nas fezes, bem como aumento da concentração de gama-globulina (Smithers & Walker, 1961).

EFEITOS DA MÁ-NUTRIÇÃO DO HOSPEDEIRO SOBRE *S. mansoni*

As repercussões do estado de nutrição do hospedeiro vertebrado sobre o parasito (*S. mansoni*) fazem-se sentir tanto sobre a sua estrutura, como sobre a sua biologia. A maioria dos trabalhos citados na literatura, como pode ser visto no Quadro 3, refere-se a estados de subnutrição (protéica ou energético-protéica) ou a deficiências específicas (de vitaminas A, C, E etc.) e, mais raramente, a estados de supernutrição por *diabetes mellitus* experimentalmente induzido por aloxana e estreptozotocina. Verifica-se, de modo geral, que as relações entre má-nutrição do hospedeiro e organismo parasitário são do tipo antagônico, ao contrário do que sucede com os efeitos do parasitismo sobre o estado de nutrição do hospedeiro, analisado em tópico anterior (efeito sinérgico).

Além da maior facilidade com que as cercárias parecem penetrar no organismo de hospedeiros desnutridos (Coutinho-Abath, 1962), a desnutrição, provavelmente por condicionar uma menor resistência do hospedeiro devido à sua reduzida capacidade de reagir imunologicamente contra o parasito, é compatível com o desenvolvimento de maior número de vermes no organismo parasitado. Todavia, a ausência de nutrientes essenciais ao parasito torna o meio interno (sangue) do hospedeiro inadequado ao seu desenvolvimento, provocando maior taxa de mortalidade parasitária.

Diversas alterações somáticas em parasitos machos e fêmeas adultos (redução no comprimento e largura do corpo; na distância entre as ventosas oral e ventral e áreas correspondentes às mesmas; na área ocupada pelas massas testiculares; menor freqüência do achado de ovos na cavidade uterina; redução do comprimento e da área ocupada pelo ovário; redução da distância entre o poro genital e o término das

glândulas vitelinas) foram detectadas, por meio de técnicas morfométricas, por Neves et al. (2002) e Oliveira et al. (2003). As alterações que comprometem o sistema reprodutor justificam os distúrbios de maturação e a menor capacidade de produção de ovos por esquistossomos retirados de hospedeiros experimentais desnutridos.

Quadro 3 – Má-nutrição do hospedeiro e seus efeitos sobre o *Schistosoma mansoni*

Efeitos Observados	Hospedeiro	Tipo de Dieta	Autores
Desenvolvimento e sobrevida de maior número de parasitos	Rato albino	Deficiente em vitamina A	Krakower, Hoffman & Axtmayer, 1940
Ovos com casca e conteúdo anormais	Cobaia	Deficiente em vitamina C	Krakower, Hoffman & Axtmayer, 1944
Desenvolvimento de maior número de parasitos e prejuízo no seu desenvolvimento somático e maturação sexual; deposição de ovos com conteúdo anormal	Camundongo albino	Deficiente em fator 3, vitamina E e cistina (levedo de Torula)	DeWitt, 1957b
Alterações do desenvolvimento e da morfologia dos órgãos reprodutores, redução da oviposição	Camundongo albino	Hipoprotéica	De Meillon & Patterson, 1958
Aumento da mortalidade parasitária após terapêutica esquistossomicida	Camundongo	Dieta comercial, sem enriquecimento	Luttermoser & DeWitt, 1961
Redução da oviposição e da reação granulomatosa periovular no fígado do hospedeiro	Camundongo	Hipoprotéica/ hipocalórica	Knauft & Warren, 1969
Alterações do desenvolvimento somático global e da atividade reprodutora (menor número de ovos por parasito), acompanhando distúrbios do metabolismo glicídico causados pela aloxana	Camundongo albino	Normoprotéica; hiperglicemia por diabetes (aloxana)	Magalhães et al., 1978
Efeito depressor sobre a capacidade reprodutiva dos parasitos (viabilidade, maturação e desproporção entre os estágios de maturação dos ovos excretados nas fezes)	Camundongo albino	Hipoprotéica/ hipocalórica	Akpom, 1978
Atraso no desenvolvimento somático dos parasitos; oviposição sem alterações	Camundongo albino	Deficiente em vitamina A	Turchetti-Maia et al., 1983
Desenvolvimento de menor número de parasitos e alterações na morfologia dos machos	Camundongo albino	Hipoprotéica	Magalhães et al., 1986
Redução na excreção fecal de ovos devida a distúrbios de maturação	Camundongo albino	Hiperglicemia por diabetes (estreptozotocina)	Hulstijn et al., 2001
Alterações do sistema reprodutor e da topografia somática de parasitos adultos machos, detectadas por microscopia confocal de varredura a laser	Camundongo albino	Hipoprotéica	Neves et al., 2001

Quadro 3 – Má-nutrição do hospedeiro e seus efeitos sobre *Schistosoma mansoni* (continuação)

Efeitos Observados	Hospedeiro	Tipo de Dieta	Autores
Redução em diversos parâmetros morfométricos das massas testiculares (parasitos machos) e de estrutura de ovos intra-uterinos (parasitas fêmeas)	Camundongo albino	Hipoprotéica	Neves et al., 2002
Alterações detectadas por análise morfométrica em diversos parâmetros da estrutura de parasitos machos e fêmeas adultos	Camundongo albino	Hipoprotéica	Oliveira et al., 2003

Estudos utilizando microscopia confocal a laser revelam, também, alterações ultra-estruturais no tegumento (presença de tubérculos grandes, mais numerosos, achatados e dispostos de modo agrupado, áreas vacuoladas na região subtegumentar e, no sistema reprodutor, poucas células diferenciadas nos lobos testiculares), em esquistossomos machos, adultos, recolhidos de hospedeiros em carência protéica (Neves et al., 2001).

Em camundongos diabéticos, a menor excreção fecal de ovos de *S. mansoni* parece ser devida à produção de ovos inviáveis, por distúrbios de maturação, de vez que a carga parasitária encontrada e a quantidade de ovos detectada após digestão cáustica do intestino (Hulstijn et al., 2001) foram semelhantes às dos animais-controle. Uma significativa associação entre estado diabético e diminuição do número de granulomas hepáticos foi descrita por Magalhães et al. (1978).

A menor freqüência da presença de ovos intra-uterinos, relatada em parasitos recolhidos de camundongos em carência protéica ou energético-protéica (84%, em contraposição aos 100% vistos em parasitos de animais controles) (Oliveira et al., 2003) e a produção de ovos inviáveis, com casca ou conteúdo de aspecto anormal, indicando degeneração miracidiana, provavelmente explicam a formação de granulomas periovulares pouco numerosos e hiporreativos no fígado dos camundongos desnutridos (Knauft & Warren, 1969; Coutinho et al., 2003).

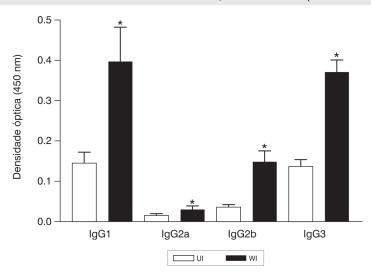
ESQUISTOSSOMÍASE, ESTADO NUTRICIONAL E RESPOSTA IMUNE

A ocorrência, nas doenças infectoparasitárias em geral, de uma íntima relação entre má-nutrição (sobretudo do tipo desnutrição protéica) e resposta imune do hospedeiro, tem sido detectada em numerosos estudos realizados em populações humanas e em modelos experimentais (Scrimshaw, Taylor & Gordon, 1970; Gautam, Aikat & Schgal, 1973; Machado, 1983). A desnutrição interage negativamente com a resposta imune do hospedeiro, provocando deficiência de nutrientes básicos necessários ao desenvolvimento da imunidade ao parasito (Meira, 1995). Efeitos desfavoráveis podem ser provocados não apenas sobre o braço antígeno específico do sistema imune, como também sobre muitos dos mecanismos gerais de defesa do hospedeiro. As disfunções imunológicas associadas à má-nutrição foram modernamente rotuladas como *Nutritionally Acquired Immune Deficiency Syndromes* (Naids) e assim todo tipo de deficiência imunológica induzida por má-nutrição em crianças e idosos pode ser incluído nessa designação (Beisel, 1996).

Como lembra Akpom (1982), as manifestações clínicas da esquistossomíase variam de acordo com a intensidade da infecção: podem ser severas em áreas hiperendêmicas e em indivíduos com infecções intensas

ou podem ser discretas ou até subclínicas, em áreas de baixa endemicidade ou em pacientes com infecções leves. Esta variação deve afetar o tipo e intensidade de qualquer repercussão sobre o estado nutricional.

Na literatura pertinente, estudos sobre a imunologia e a imunopatologia da esquistossomíase no hospedeiro desnutrido são pouco freqüentes. Sabe-se que ocorre imunomodulação da inflamação na esquistossomíase, porém os processos fibrosantes são modulados de modo independente, pelo menos no modelo murino (Olds et al., 1989). Ratos infectados deficientes em vitamina A apresentam redução da imunidade humoral (baixos níveis séricos de IgE e de anticorpos antiesquistossomos), porém a resposta imune celular mantém-se inalterada (Parente t al., 1984). Dados recentemente publicados por Oliveira et al. (2004), em camundongos *outbred* Swiss com infecção crônica de moderada intensidade, comparam animais eutróficos com desnutridos e referem resultados semelhantes entre os grupos, em relação à resposta linfoproliferativa e à produção das citocinas IFN-γ e IL-5. Todavia, a resposta imune humoral ao antígeno ovular solúvel (SEA) foi duas a quatro vezes menor nos camundongos esquistossomóticos desnutridos, em relação aos anticorpos SEA-específicos IgG1, IgG2a, IgG2b e IgG3 (Figura 9). Estudos a respeito da resposta imune no hospedeiro desnutrido infectado com *S. mansoni* merecem ser aprofundados, particularmente diante da perspectiva da descoberta e aplicação de futuras vacinas antiparasitárias em regiões de subnutrição e fome endêmicas.

Figura 9 – Títulos de anticorpos SEA- específicos em camundongos albinos *Swiss*, obtidos quatro meses após a infecção com *Schistosoma mansoni.* UI: desnutridos; WI: eutróficos (Oliveira et al., 2004)

Sendo a esquistossomíase considerada uma doença primariamente imunológica em resposta à deposição de ovos nos tecidos (Warren, Domingo & Cowan, 1967; Warren, 1979; Akpom, 1982); e, por outro lado, face às evidências de que a desnutrição modifica a resposta imune do hospedeiro parasitado, existindo uma interação dinâmica entre os processos metabólicos e as reações imunológicas desse hospedeiro, estudos nessa área continuam a ser de indiscutível importância.

PERSPECTIVAS E *LINKS* NO ESTUDO DAS RELAÇÕES ENTRE MÁ-NUTRIÇÃO E ESQUISTOSSOMÍASE

De acordo com Nesheim (1993), no ciclo da má-nutrição/infecção, a severidade dos efeitos provocados pelas infecções parasitárias em geral (inclusive a esquistossomíase) sobre o estado de nutrição do hospedeiro depende: da situação nutricional em que se encontra esse hospedeiro, quando a infecção se estabelece; da intensidade da infecção; e do meio ambiente, em termos de disponibilidade de alimentos para o hospedeiro.

A literatura pertinente, revisada neste capítulo, registra a existência de uma forte associação entre ocorrência de má-nutrição e de deficiências nutricionais em indivíduos infectados com *Schistosoma*, particularmente em populações socialmente excluídas. Segundo a Oficina Sanitária Pan-Americana (Paho, 2003), a esquistossomíase parece florescer em regiões tropicais do mundo onde os indivíduos sofrem com pobreza extrema e precárias condições de higiene.

O estado nutricional, apesar dos achados às vezes divergentes, ainda continua a ser incluído entre os fatores que podem contribuir para o desenvolvimento das formas graves da esquistossomíase no homem (Butterworth et al., 1994). Evidências de associação positiva entre prevalência/intensidade da esquistossomíase e estado nutricional do hospedeiro (Coutinho, 1979/1980; Stephenson, 1986; Corbett et al., 1992; Coutinho et al., 1997a; Parraga et al., 1996) ou entre estado nutricional e manifestações clínicas relacionadas à esquistossomíase (DeWitt, Oliver-González & Medina, 1964; Coutinho, 1979/1980; Akpom & Warren, 1975b; Stephenson, 1993; Sturrock et al., 1996) acham-se registradas na literatura.

Como foi discutido neste capítulo, as infecções em geral, inclusive parasitárias, afetam de modo adverso o estado nutricional do hospedeiro, podendo provavelmente influir na evolução da doença, havendo indicativos de que esses efeitos ocorram, também, na esquistossomíase (Coutinho, 1979/1980). Por outro lado, a prevenção e o controle das infecções parasitárias em geral pode representar recurso eficaz para quebrar o ciclo da má-nutrição/infecção observado principalmente em crianças, importante grupo de risco no caso da esquistossomíase (Crompton & Nesheim, 1982).

O estado de nutrição do hospedeiro vertebrado, portanto, não deve ser ignorado no estudo da esquistossomíase, pois, em qualquer relação hospedeiro-parasito, o parasito em alguma fase de seu ciclo vital retirará sua energia e nutrir-se-á, direta ou indiretamente, do alimento, dos metabolitos ou dos tecidos do seu hospedeiro (Crompton, 1993). No caso particular da esquistossomíase, quatro tipos de interação parasito-hospedeiro podem ocorrer:

- fornecimento ao parasito de nutrientes e energia, às expensas dos próprios tecidos do hospedeiro (sangue) e seus metabolitos;
- prejuízo para o hospedeiro nas etapas de ingestão, digestão, absorção e metabolização de macro e micronutrientes da sua dieta, no decurso da infecção parasitária;
- crescimento, sobrevida e reprodução dos esquistossomos, podendo sofrer modificações em função da quantidade e da qualidade da dieta consumida pelo hospedeiro;
- variação na capacidade de resistência do hospedeiro à infecção parasitária, como repercussão da inadequada reação imunológica anteposta à invasão dos parasitos, em organismo deficiente em macro e micronutrientes essenciais.

Apesar do acervo de publicações já existentes a respeito das interações entre esquistossomíase e estado nutricional do hospedeiro vertebrado, são necessárias novas investigações que possam elucidar aspectos ainda mal esclarecidos, tais como: estado nutricional e sua importância na evolução para as formas graves da parasitose (estudos longitudinais interdisciplinares baseados em amostras de tamanho adequado, usando metodologia rigorosa e uniforme) em populações humanas residentes em áreas endêmicas; avaliação da importância de programas de reabilitação nutricional em escolares residentes em áreas endêmicas, como estratégia de controle das formas leves da esquistossomíase; resposta imune, imunorregulação e imunopatologia em hospedeiros desnutridos (homem e modelos experimentais); relações entre desnutrição e fibrose hepática periportal no homem; estado nutricional em pacientes esquistossomóticos com infecções concomitantes e importância de programas de suplementação alimentar supervisionada; efeitos provocados pela suplementação de micronutrientes nas reinfecções por *Schistosoma*.

Sabe-se que as deficiências em micronutrientes, principalmente ferro, vitamina A e zinco, podem contribuir para aumentar o risco de infecção ou para provocar infecções parasitárias de maior intensidade (Steketee, 2003), por mecanismos imunológicos que vêm sendo amplamente investigados.

Daí porque os estudos sobre patologia da esquistossomíase em hospedeiros desnutridos oferecem vasto campo de indagações, na perspectiva de elucidação dos mecanismos pelos quais o fator nutrição possa influenciar a evolução e as conseqüências de tal infecção parasitária, ainda em expansão em nosso país.

Como conclusão, pode-se dizer que:

- O fator nutrição não pode ser ignorado no estudo das parasitoses, inclusive a esquistossomíase, de vez que, em qualquer relação hospedeiro/parasito, o parasito, para assegurar seu desenvolvimento e sobrevivência, em alguma fase retirará sua energia e nutrientes, direta ou indiretamente, do alimento, metabolitos e tecidos do hospedeiro.
- A infecção por *S. mansoni* se relaciona com várias formas de má-nutrição, embora ainda não esteja completamente esclarecido com que intensidade ela agrava ou provoca estado de má-nutrição no homem. Também são restritas as informações sobre as variações da morbidade por esquistossomíase em hospedeiros desnutridos, embora seus efeitos sobre o crescimento e desenvolvimento somático de crianças escolares, portadoras de forma hepatoesplênica, se achem documentados em trabalhos publicados por vários autores, assim como a redução da atividade física e da produtividade em adultos.
- Estudos experimentais utilizando o modelo camundongo têm revelado alterações do metabolismo protéico, redução na capacidade de absorção de proteínas pelo intestino, alterações na proporção entre os tipos de vilosidades jejunais (com tendência a achatamento multifocal das mesmas) e influência do estado nutricional na dinâmica de reabsorção do colágeno, em granulomas hepáticos de animais desnutridos e com infecção crônica por *S. mansoni*.

Estudos recentes sobre as repercussões da má-nutrição nos países subdesenvolvidos estimam que pelo menos 1/3 das doenças que afetam as populações desses países guarda relação com o estado nutricional dos indivíduos; e que 32% dos efeitos provocados pelas doenças infectoparasitárias, em termos de mortalidade e morbidade, poderiam ser anulados com a eliminação da má-nutrição das comunidades atingidas (Mason, Musgrove & Habichit, 2003).

Programas de reabilitação nutricional nas áreas endêmicas para esquistossomíase poderiam ser benéficos como medida complementar ao tratamento quimioterápico em massa, dirigido, sobretudo, a crianças pré-escolares e escolares. A medida traria benefícios não somente em relação à esquistossomíase, como também a outras parasitoses associadas, cuja interação recíproca pode modular ou agravar as relações parasito/hospedeiro, mesmo em populações com estado nutricional adequado.

REFERÊNCIAS

AKPOM, C. A. The oogram as a sensitive method of assessing the effect of dietary deficiency on the parasite in experimental Schistosomiasis mansoni. *Tropical and Geographical Medicine*, 30: 219-225, 1978.

AKPOM, C. A. Suppression of granuloma formation around *Schistosoma mansoni* eggs in severe protein malnutrition: the role of the egg. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 75: 444-446, 1981.

AKPOM, C. A. Schistosomiasis: nutritional implications. *Reviews of Infectious Diseases*, 4: 776-782, 1982.

AKPOM, C. A. & WARREN, K. S. Calorie and protein malnutrition in chronic murine schistosomiasis mansoni: effect on the parasite and the host. *The Journal of Infectious Diseases*, 132: 6-14, 1975a.

AKPOM, C. A. & WARREN, K. S. The inhibition of granuloma formation around *Schistosoma mansoni* eggs. VI. Protein, calorie and vitamin deficiency. *The American Journal of Pathology*, 79: 435-452, 1975b.

AMORIM, F. M. S. *Patomorfologia e Estudo Estereológico do Jejuno, na Primoinfecção Crônica de Camundongos Desnutridos, Infectados com* Schistosoma mansoni, 2000. Tese de Doutorado, Recife: Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernamabuco.

ANDRADE, Z. A. Pathogenesis of “pipestem” fibrosis of the liver (Experimental observation on murine schistosomiasis). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82: 325-334, 1987.

ANDRADE, Z. A. & CHEEVER, A. W. Characterization of the murine model of schistosomal hepatic periportal fibrosis (‘pipestem’ fibrosis). *International Journal of Experimental Pathology*, 74: 195-202, 1993.

ANDRADE, Z. A. & WARREN, K. S. Mild prolonged schistosomiasis in mice: alterations in host response with time and the development of portal fibrosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 58: 53-57, 1964.

ANDRADE, Z. A.; SILVA, L. M. & SOUZA, M. M. An experimental approach to the pathogenesis of ‘pipestem’ fibrosis (Symmers fibrosis of the liver). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92: 699-706, 1997.

ASSIS, A. M. O. et al. *Schistosoma mansoni* infection and nutritional status in schoolchildren: a randomized, doublé-blind trial in northeastern Brazil. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 68: 1.247-1.253, 1998.

AZIZ, M. Et al. Vitamin A deficiency and bilharzial hepatic fibrosis. *Nutrition Reports International*, 30: 55- 62, 1984.

BARBOSA, F. S. & PEREIRA, D. P. D. Incapaciting effects of schistosomiasis mansoni on the productivity of sugar-cane cutters in Northeast Brazil. *American Journal of Epidemiology*, 114: 102-111, 1981.

BEFIDI-MENGUE, R. N. et al. Impact of *Schistosoma haematobium* infection and of praziquantel treatment on anaemia of primary school children in Bertoua, Cameroon. *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 96: 225-230, 1993.

BEISEL, W. R. Nutrition and immune function: overview. *The Journal of Nutrition*, 126, supl.: 2.611S-2.615S, 1996.

BELL, D. R. Diet and therapy in Bilharziasis. *The Lancet*, 1: 643-644, 1964.

BHATTACHARYYA, K. K. Low protein diet as a factor in the production of experimental schistosomal hepatic fibrosis. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, 89: 13-21, 1965.

BUTTERWORTH, A. E. et al. Immunity and morbidity in human schistosomiasis mansoni. *Tropical and Geographical Medicine*, 46: 197-208, 1994.

CHANDRA, R. K. Nutrition and the immune system: an introduction. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 66: 460-463, 1997.

COOK, J. A. et al. A controlled study of morbidity of schistosomiasis mansoni in St. Lucian children, based on quantitative egg excretion. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 23: 625-633, 1974.

CORBETT, E. L. et al. Nutritional status of children with schistosomiasis mansoni in two different areas of Machakos District, Kenya. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 86: 266-273, 1992.

COUTINHO, A. & LOUREIRO, P. Aspectos bioquímicos da insuficiência hepática na esquistossomose mansônica hepato-esplênica. *Anais da Faculdade de Medicina do Recife*, 20: 27-49, 1960.

COUTINHO, A. et al. Alterações bioquímicas na esquistossomose mansônica humana, com especial referência ao metabolismo lipídico. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 17: 293-307, 1965.

COUTINHO, E. M. *Relações Hospedeiro-Parasito na Esquistossomose Mansônica, em Função na Dieta Básica Regional (Estudo Epidemiológico E Anátomo-Patológico)*, 1976. Tese de Doutorado, Recife: Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

COUTINHO, E. M. Estado nutricional e esquistossomose. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 13: 91-96, 1979/1980.

COUTINHO, E. M. Nutrição e saúde pública: nutrição x infecções. In: CHAVES, N. *Nutrição Básica e Aplicada*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1985.

COUTINHO, E. M. Malnutrition and hepatic fibrosis in murine schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99, supl. 1(5): 85-92, 2004.

COUTINHO, E. M.; FREITAS, L. P. C. G. & ABATH, F. G. C. The influence of the Regional Basic Diet from Northeast Brazil on health and nutritional conditions of mice infected with *Schistosoma mansoni*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 25: 13-20, 1992.

COUTINHO, E. M. et al. Inquerito clínico-nutricional e antropométrico preliminar, em áreas endêmicas de esquistossomose mansônica, no nordeste do Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 6: 211-236, 1972.

COUTINHO, E. M. et al. Factors involved in *Schistosoma mansoni* infection in rural areas of Northeast Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92: 707-715, 1997a.

COUTINHO, E. M. et al. Pathogenesis of schistosomal "pipestem" fibrosis: a low-protein diet inhibits the development of "pipestem" fibrosis in mice. *International Journal of Experimental Pathology*, 78: 337-342, 1997b.

COUTINHO, E. M. et al. Liver and serum soluble protein changes and pathomorphology in undernourished mice with acute schistosomiasis mansoni. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 24: 235-243, 1991.

COUTINHO, E. M. et al. Host nutritional status as a contributory factor to the remodeling of schistosomal hepatic fibrosis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 98: 919-925, 2003.

COUTINHO-ABATH, E. Influence of protein intake on the penetration of cercariae of *S. mansoni* in the skin of normal and experimentally infected mice. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 4: 230-241, 1962.

COUTINHO-ABATH, E.; MAGALHÃES FILHO, A. & BARBOSA, J. M. Lesões hepáticas no camundongo albino experimentalmente infestado por *Schistosoma mansoni* e submetido a dietas de diferente teor protéico. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 4: 311-322, 1962.

COUTO, J. L. A. et al. Structural changes in the jejunal mucosa of mice infected with *Schistosoma mansoni*, fed low or high protein diets. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 35: 601-607, 2002.

CROMPTON, D. W. T. Nutritional aspects of infection. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 80: 697-705, 1986.

CROMPTON, D. W. T. Human nutrition and parasitic infection. *Parasitology,* 107: 1S-2S, 1993.

CROMPTON, D. W. T. & NESHEIM, M. C. Nutritional science and parasitology: a case for collaboration. *Bioscience,* 32: 677-680, 1982.

DE MEILLON, B. & PATTERSON, S. Experimental bilharziasis in animals. VII Effect of a low-protein diet on bilharziasis in white mouse. *South African Medical Journal*, 32: 1.086-1.088, 1958.

DEWITT, W. B. Experimental schistosomiasis mansoni in mice maintained on nutritionally deficient diets I. Effects of a Torula yeast ration deficient in factor 3, vitamin E and cystine. *The Journal of Parasitology*, 13: 119-128, 1957a.

DEWITT, W. B. Experimental schistosomiasis mansoni in mice maintained on nutritionally deficient diets II Survival and development of *Schistosoma mansoni* in mice maintained on a Torula yeast diet deficient in factor 3, vitamin E and cystine. *The Journal of Parasitology*, 43: 129-135, 1957b.

DEWITT, W. B. Effects of *Schistosoma mansoni* infection on the ability of mice to digest and absorb dietary fat and proteins. *The Journal of Parasitology*, 43: 32, 1957c.

DEWITT, W. B.; OLIVER-GONZÁLEZ, J. & MEDINA, E. Effects of improving the nutrition of malnourished people infected with *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 13: 25-35, 1964.

EL KARIM, M. A. A. The effect of schistosomiasis on 24-hour energy expenditure. *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 89: 303-307, 1986.

EL-ROOBY, A. et al. Study on the malabsorption syndrome among egyptians. II Malabsorption in bilharzial hepatic fibrosis. *The Journal of the Egyptian Medical Association*, 46: 777-782, 1963.

EVANS, A. S. & STIREWALT, M. A. Serologic reactions in *Schistosoma mansoni* infections. IV. Comparative ionographic study of sera of hamsters, mice, and albino rats. *Experimental Parasitology*, 7: 165-177, 1958.

FARAH, I. O. & NYINDO, M.*Schistosoma mansoni* induces in the Kenyan baboon a novel intestinal pathology that is manifestly modulated by an irradiated cercarial vaccine. *The Journal of Parasitology*, 82: 601-607, 1996.

FERREIRA, H. S. et al. Intestinal protein absorption in malnourished mice with acute schistosomiasis mansoni. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 88: 581-587, 1993.

FERREIRA, H. S. et al. A long-term intake of a protein hydrolysate seems to increase the risk of encephalopathy in mice infected with *Schistosoma mansoni*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93, supl. 1: 199-203, 1998.

FERREIRA, L. F. O fenômeno parasitismo. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 7: 261-277, 1973.

FIORILLO, A. M. Eletroforese das proteínas do sangue na esquistossomose mansônica, forma hepatoesplênica. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 8: 1-8, 1966.

FREITAS, L. P. C. G. et al. Growth rates of undernourished mice infected with different cercarial burdens of *Schistosoma mansoni* (acute phase). In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SCHISTOSOMIASIS, 4, 1993, Rio de Janeiro, Abstract n. 49. *Anais...* Rio de Janeiro: Fiocruz, 1993.

GAUTAM, S. C.; AIKAT, B. K. & SCHGAL, S. Immunological studies in protein malnutrition. I Humoral and cell mediated immune response in protein deficient mice. *The Indian Journal of Medical Research*, 61: 78-85, 1973.

HASHEM, M. & FAHMY, S. A. The effects of dietetic deficiency on the evolution of bilhazial hepatic fibrosis in the experimental animals. Proceedings 1st. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BILLHARZIASIS, 1962, Cairo. *Anais...* Cairo, 1962.

HIATT, R. A. & GEBRE-MEDHIN, M. Morbidity from *Schistosoma mansoni* infections: an epidemiologic study based on quantitative analysis of egg excretion in Ethiopian children. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 26: 473-481, 1977.

HOMEDES, N. The disability – adjusted life – year (DALY): definition, measurement and potential use. In: EUROPEAN BIOETHICS CONFERENCE, 1995, Sant Cugat del Valles. *Anais...* Sant Cugat del Valles: HCO Working Papers, 1995.

HULSTIJN, M. et al. Lower faecal egg excretion in chemically-induced diabetic mice infected with *Schistosoma mansoni* due to impaired egg maturation. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 393-396, 2001.

JAMRA, M.; MASPES, V. & MEIRA, D. A. Types and mechanisms of anemia in schistosomiasis mansoni. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 6: 126-136, 1964.

JELLIFFE, D. B. *Evaluación del Estado de Nutrición de la Comunidad, con Especial Referencia a las Encuestas en las Regiones en Desarrollo*. Ginebra: OMS, 1968. (Serie Monografías, 53)

KERSHAW, W. E.; LEYTHAM, G. W. H. & DICKERSON, G. The effect of schistosomiasis on animal intelligence. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 53: 504-506, 1959.

KNAUFT, R. F. & WARREN, K. S. The effect of calorie and protein malnutrition on both the parasite and the host in acute murine Schistosomiasis mansoni. *The Journal of Infectious Diseases*, 120:560-575, 1969.

KRAKOWER, C.; HOFFMAN, W. A. & AXTMAYER, J. H. The fate of schistosomes (*S. mansoni*) in experimental infections of normal and vitamin A deficient white rats. *Puerto Rico Journal of Public Health and Tropical Medicine*, 16: 296-391, 1940.

KRAKOWER, C.; HOFFMAN, W. A. & AXTMAYER, J. H. Defective granular eggshell formation by *Schistosoma mansoni* in experimentaly infected guinea-pigs on a vitamin C deficient diet. *The Journal of Infectious Diseases*, 74: 178-183, 1944.

LATHAM, M. C. Needed research on the interactions of certain parasitic diseases and nutrition in humans. *Reviews of Infectious Diseases*, 4: 896-900, 1982.

LEHMAN, J. S. et al. The intensity and effects of infection with *Schistosoma mansoni* in a rural community in north-east Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 25: 285-294, 1976.

LIMA E COSTA, M. F. F. et al. Anthropometric meansures in relation to schistosomiasis mansoni and socioeconomic variables. *International Journal of Epidemiology*, 17: 880-886, 1988.

LUTTERMOSER, G. W. & DEWITT, W. B. Enhancement of Stibophen (Fuadin) activity against *Schistosoma mansoni* in mice by feeding purified semi-synthetic diets. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 10: 541-546, 1961.

MACHADO, I. Immunocompetencia en malnutricion. *Gen,* 37: 157-166, 1983.

MACHADO, R. J. C. et al. Função absortiva da mucosa do intestino delgado de esquistossomóticos hepato-esplênicos, antes e após esplenectomia associada à ligadura de varizes esofagianas. *Anais da Faculdade de Medicina do Recife*, 38: 56-62, 1993.

MACHADO, R. J. C. et al. Análise morfométrica do intestino delgado de esquistossomóticos. *Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco*, 41: 34-41, 1996.

MAGALHÃES, L. A. et al. Influência da dieta hiperglicidica e do diabetes aloxânico sôbre a vitalidade do *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, em camundongos experimentalmente infectados. *Revista de Saúde Pública*, 12: 267-276, 1978.

MAGALHÃES, L. A. et al. Esquistossomose mansônica em camundongos experimentalmente subnutridos. *Revista de Saúde Pública*, 20: 362-368, 1986.

MALDONADO, J. F. The host parasite relationships in schistosomiasis mansoni. *Boletín de la Asociación Médica de Puerto Rico*, 51: 228-237, 1959.

MANSOUR, N. M.; MIKHAIL, M. M. & GUIRGIS, N. I. Effect of zinc supplementation on *S. mansoni*-infected hamsters. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 77: 517-521, 1983.

MASON, J. B.; MUSGROVE, P. & HABICHT, J. P. *At Least One-third of Poor Countries' Disease Burden is Due to Malnutrition. Disease Control Priorities Project.* Bethesda, Maryland: Fogarty International Center, National Institutes of Health, 2003. (Working Paper, 1)

MCGARVEY, S. T. et al. Schistosomiasis japonica and childhood nutritional status in Northeastern Leyte, the Philippines: a randomized trial of Praziquantel versus placebo. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 54: 498-502, 1996.

MEIRA, D. A. Interação, infecção, nutrição e imunidade. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 28: 315-319, 1995.

MOTT, C. B.; NEVES, D. P. & BETTARELLO, A. Absorção intestinal na forma hepatoesplenica da esquistossomose mansônica. *Revista do Hospital das Clínicas*, 26: 55-60, 1971.

NAWAR, O. et al. The effect of zinc deficiency on granuloma formation, liver fibrosis, and antibody response in experimental schistosomiasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 47: 383-389, 1992.

NESHEIM, M. C. Human nutrition needs and parasitic infections. *Parasitology,* 107: 7S-18S, 1993.

NEVES, R. H. et al. Morphological aspects of *Schistosoma mansoni* adult worms isolated from nourished and undernourished mice: a comparative analysis by confocal laser scanning microscopy. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 1.013-1.016, 2001.

NEVES, R. H. et al. Phenotypic characterization of *Schistosoma mansoni* adult worms recovered from undernourished mice: a morphometric study focusing on the reproductive system. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 35: 405-407, 2002.

NEWPORT, G. R. & COLLEY, D. G. Schistosomiasis. In: WARREN, K. S. *Immunology and Molecular Biology of Parasitic Infections*. 3. ed. Boston: Blackwell Sci. Publ., 1993.

NIGRO, S. P. et al. Estudo morfométrico da mucosa jejunal na esquistossomose mansônica humana. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 30: 61-63, 1984.

OLDS, G. R. et al. Differential immunoregulation of granulomatous inflammation, portal hypertension, and hepatic fibrosis in murine schistosomiasis. *Journal of Immunology*, 142: 3.605-3.611, 1989.

OLIVEIRA, S. A. et al. Morphometric study of *Schistosoma mansoni* adult worms recoveral from undernourished infected mice. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 98: 623-627, 2003.

OLIVEIRA, S. A. et al. Descreased humoral and pathologic responses in undernourished mice infected with *Schistosoma mansoni*. *Parasitology Research*, 93: 30-35, 2004.

ORSINI, M. et al. The role of nutritional status and insulin – like growth factor in reduced physical growth in hepatosplenic *Shistosoma mansoni* infection. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 95: 453-456, 2001.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO). An epidemiological overview of geohelminth and schistosomiasis in the Caribbean, 2003. (Series PAHO/DPC/CD/P/242/03)

PARENT, G. et al. Influence of vitamin A on the immune response of *Schistosoma mansoni*-infected rats. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 78: 380-383, 1984.

PARRAGA, I. M. et al. Gender differences in growth of school-aged children with schistosomiasis and geohelminth infection. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 55: 150-156, 1996.

PENNA, F. J. & BRASILEIRO FILHO, G. Lack of correlation between jejunal mucosal morphology and intestinal absorption in the hepatosplenic form of schistosomiasis mansoni. *Arquivos de Gastroenterologia*, 25: 224-228, 1988.

PESSOA, S. B. Contribuição para o estudo da correlação entre a carência alimentar e os fatores parasitários na anemia da esquistossomose. *Anais da Faculdade de Medicina da Paraíba*, 1: 52-60, 1956.

PROIETTI, F. A. et al. Epidemiology of *Schistosoma mansoni* infection in a low-endemic area in Brazil: clinical and nutritional characteristics. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 34: 409-419, 1992.

PRUAL, A. et al. Consequences of *Schistosoma haematobium* infection on the iron status of schoolchildren in Niger. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 47: 291 -297, 1992.

PUCCI, H. et al. Estudo da absorção intestinal das gorduras na esquistossomose mansônica humana. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 24: 341-344, 1978.

SADEK, M. G. A.; BORGES, D. R. & MISZPUTEN, S. J. Atividade dissacaridásica intestinal na esquistossomose mansônica. Estudo evolutivo em camundongos com diferentes cargas de infestação. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 28: 67-73, 1986.

SCRIMSHAW, N. S. Interactions of malnutrition and infection: advances in understanding. In: ALSON, R. E. *Protein-calorie Malnutrition*. New York: Academic Press, 1975.

SCRIMSHAW, N. S.; TAYLOR, C. E. & GORDON, J. E. *Nutricíon e Infecciones: su accion recíproca*. Genebra: OMS, 1970.

SMITHERS, S. R. & WALKER, P. J. Serum protein changes in monkeys infected with *Schistosoma mansoni*, with special reference to the metabolism of albumim. *Experimental Parasitology*, 11: 39-49, 1961.

SOUIDAN, M. Z. et al. A study of small intestinal function histology and histochemistry in hepatosplenic schistosomiasis. *The Journal of the Egyptian Medical Association*, 62: 119-146, 1979.

STEKETEE, R. W. Pregnancy, nutrition and parasitie diseases. *The Journal of Nutrition*, supl.: 1.661-1.667, 2003.

STEPHENSON, L. Schistosomiasis and human nutrition. *Cornell International Nutrition Monographs Series*, 16: 1-21, 1986.

STEPHENSON, L. The impact of schistosomiasis on human nutrition. *Parasitology*, 107: 107-123, 1993.

STEPHENSON, L. S. *Impact of Helminth Infections on Human Nutrition*. London: Taylor and Francis, 1987.

STEPHENSON, L. S.; LATHAM, M. C. & OTTESEN, E. A. Malnutrition and parasitic helminth infections. *Parasitology*, 121: 23-38, 2000.

STURROCK, R. F. et al. Schistosomiasis mansoni in Kenya: relationship between infection and anaemia in schoolchildren at the community level. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 90: 48-54, 1996.

TSHIKUKA, J. G. et al. Relationship of childhood protein-energy malnutrition and parasite infections in an urban African setting. *Tropical Medicine & International Health*, 2: 374-382, 1997.

TURCHETTI-MAIA, R. M. et al. The association of *Schistosoma mansoni* infection with vitamin A deficiency in mice. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 25: 215-222, 1983.

VAN EE, J. H. & POLDERMAN, A. M. Physiological performance and work capacity of tin mine labourers infested with Schistosomiasis in Zaire. *Tropical and Geographical Medicine*, 36: 259-266, 1984.

VENGESA, P. B. & LEESE, H. J. Sugar absorption by the mouse small intestine following infection with *Schistosoma mansoni*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 73: 55-60, 1979.

VON BERTALANFFY, L. General systems theory – a new approach to the theory of science. *Human Biology*, 4: 302, 1951.

WALKER, A. R. P. Studies bearing on parasitism and nutritional state. In: AFRICAN CONFERENCE ON BILHARZIASIS, 1956, Brazzaville. *Anais...* Brazzaville: World Health Organization, 1956.

WALKER, A. R. P.; FLETCHER, D. C. & TRAILL, V. An investigation of haemoglobin concentration and blood loss in stools of adult South African Bantu infested with intestinal *Schistosoma mansoni*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 48: 501-506, 1954.

WARREN, K. S. The pathogenesis of 'clay pipestem cirrhosis' in mice with chronic schistosomiasis mansoni, with a note on the longevity of the schistosomes. *The American Journal of Pathology*, 49(3): 477-489, 1966.

WARREN, K. S. Pathophysiology and pathogenesis of hepatosplenic schistosomiasis mansoni. *Bulletin of the New York Academy of Medicine*, 44: 280-294, 1968.

WARREN, K. S. Worms. In: SANTER, M. *Immunologic Diseases*. 2. ed. Boston: Little & Brown, 1979.

WARREN, K. S.; DOMINGO, E. O. & COWAN, R. B. T. Granuloma formation around schistosome eggs as a manifestation of delayed hypersensitivity. *The American Journal of Pathology*, 51: 735-756, 1967.

WHITTLE, H. et al. Enlarged livers and spleens in an area endemic for malaria and schistosomiasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 63: 353-361, 1969.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Report of the WHO Informal Consultation on Schistosomiasis Control*. Geneva: WHO/CDS/CPC/SIP, 1998.

ZUCKERMAN, A. J. & MACDONALD, I. The role of dietary carbohydrates and infection on liver lipid and collagen. *British Journal of Experimental Pathology*, 45: 589-594, 1964.

21 A Resposta Imune na Forma Aguda da Esquistossomose Mansoni

Angela Silva
Luciana Barros de Santana
Amelia Ribeiro de Jesus

Lagoa do Abaís – estado de Sergipe.
(fonte hídrica natural infestada
pelo *Schistosoma mansoni*)

A infecção por *Schistosoma mansoni* produz quatro formas clínicas: a forma aguda e três formas crônicas (intestinal, hepatointestinal e hepatoesplênica) (Bina, 1981; Pessoa & Martins, 1977). Embora as formas crônicas sejam as mais prevalentes e mais associadas à morbidade em áreas endêmicas, a forma aguda é potencialmente mais grave, sendo relatadas altas taxas de mortalidade na China em pacientes infectados por *S. japonicum* (Rabello, 1995; WHO, 1993; WHO/Unicef, 1995). Segundo estudo mais recente, no qual foram avaliados 31 pacientes no período pré-patente (período mais sintomático), a forma aguda se caracteriza por uma predominância de sintomas sistêmicos, porém apresenta achados respiratórios de insuficiência ventilatória restritiva e alterações radiológicas de infiltrado intersticial pulmonar, além de pericardite, condições associadas a doenças mediadas por deposição de complexos imunes (Jesus et al., 2002). A patogênese da forma aguda é ainda controversa, porém esses dados mais recentes têm associado as suas manifestações clínicas à presença de citocinas pró-inflamatórias como TNF-α no soro e à presença de imunocomplexos circulantes (Lawley et al., 1979; Hiatt et al., 1979; Jesus et al., 2002). A eosinofilia e a elevação de concentrações de IgE específica para os antígenos do parasito no soro são bons parâmetros clínicos para o diagnóstico, porém não estão comprovadamente associados à patogênese da doença (Lambertucci, 1993).

Neste capítulo serão descritos os aspectos clínicos encontrados em indivíduos com a forma aguda de esquistossomose, visando focalizar os aspectos temporais e lesões teciduais importantes para a compreensão da patogênese da doença, além de ressaltar os principais achados imunológicos relacionados com esta sintomatologia clínica.

APRESENTAÇÃO CLÍNICA DA ESQUISTOSSOMOSE AGUDA

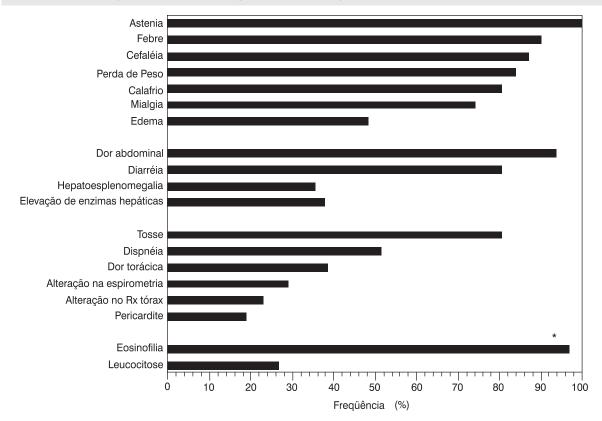
A forma aguda da esquistossomose ou febre de Katayama é uma síndrome similar à doença do soro, que ocorre entre trinta e sessenta dias após o contato com fontes hídricas naturais e de água doce suspeitas de estarem infestadas pelo parasito (Bogliolo & Neves, 1965). O quadro clínico é diversificado, podendo ser assintomático ou oligossintomático (forma não toxêmica), com presença de eosinofilia em sangue periférico e reação cutânea imediata na fase inicial do contato. A forma sintomática pode apresentar-se com sintomas inespecíficos como febre, calafrios, urticária, diarréia, emagrecimento e até um quadro semelhante ao de sepse e que pode ser causa de óbito (Neves, 1986). A forma sintomática é observada em indivíduos residentes em áreas não endêmicas (Lambertucci et al., 1993; Rabello, 1995; Montenegro et al., 1999; Jesus et al., 2002), que se expõem pela primeira vez ao parasito ao visitarem áreas endêmicas. Já em residentes de áreas endêmicas, a forma aguda pode passar despercebida, pela pobreza de sintomas e pela inespecificidade do quadro clínico, o qual é similar ao de outras doenças infecciosas agudas (Neves, 1986; Prata, 1997; Barbosa et al., 2001).

Independentemente da apresentação clínica da fase aguda, são reconhecidos dois períodos evolutivos: o pré-patente (fase evolutiva pré-postural) e o pós-patente (fase evolutiva pós-postural). O período pré-patente ocorre, em média, de trinta a sessenta dias após a infecção, quando ainda não há oviposição. Num estudo recente, em que se avaliou 31 pacientes, com a forma aguda de esquistossomose, expostos à infecção na Lagoa do Abaís, localizada no município de Estância, na região sul do estado de Sergipe, a 55 km de Aracaju, observou-se que as manifestações clínicas se iniciaram entre 21 e 28 dias após o contato com a água, com média de 24,5 (± 3,5 dias) (Jesus et al., 2002). Os indivíduos tinham entre quatro e 43 anos (21,9; ± 10,5), com 51,6% na faixa etária de vinte a 29 anos. Os sinais e sintomas mais precoces foram febre e astenia. Dermatite cercariana ao contato imediato com a água contaminada foi relatada em 13 pacientes (42,0%). Os dados clínicos observados nos 31 pacientes avaliados num período de 33 a 60 dias (média ± DP 46,5 ± 19,1) após a infecção são mostrados no Gráfico 1.

Os principais achados clínicos relatados nesse estudo foram: astenia (100%); mialgia (n = 23; 74,2%); febre contínua com duração variando de três a quarenta dias (n = 28; 90,3%); calafrios (n = 25; 80,6%); perda de peso (n = 26; 83,9%) variando de um a 13 kg em trinta dias; tosse (n = 25; 80,6%), com intensidade de leve a moderada; dispnéia aos médios e grandes esforços (n = 16; 51,6%); dor torácica (n = 12; 38,7%); edema (n = 15; 48,4%), tendo predomínio palpebral e nas extremidades, com níveis de albumina sérica, uréia e creatinina normais em 100% dos pacientes; dor abdominal (n = 29; 93,5%) de caráter difuso, com predomínio em fossa ilíaca esquerda, correspondendo ao segundo sintoma mais freqüente; diarréia com presença de muco e até mesmo de rajas de sangue nas fezes (n = 25; 80,6%), não havendo associação com infecção por outros parasitos intestinais. O baço foi palpável, sem manobras respiratórias, em oito pacientes (25,8%) e o fígado, em 16 pacientes (51,6%), com aumento difuso, sem predomínio de lobos.

Eosinofilia foi o achado laboratorial mais freqüente, presente em trinta pacientes (97,0%), sendo que um paciente não realizou o exame. A contagem total de eosinófilos variou de 540 a 7380 cel/mm^3 (1.712,6; ± 1.660,7 eosinófilos/mm^3). Evidenciaram-se alterações urinárias em cinco pacientes (16%), manifestadas por piúria, com uroculturas negativas e sem outras condições que explicassem essa anormalidade. Observou-se elevação de enzimas hepáticas, predominantemente de fosfatase alcalina FA (n = 12; 38,7%), g-GT (n = 10; 32,0%), ALT (n = 6; 19,4%), AST (n = 6; 19,4%). Pericardite, caracterizada por espessamento

do pericárdio com ausência de derrame, foi detectada em seis pacientes (19,0%). As alterações radiológicas nos raios X do tórax foram descritas como infiltrado intersticial em sete pacientes (22,6%), e a avaliação da função pulmonar pela espirometria mostrou padrão restritivo em oito pacientes (25,8%), tendo cinco destes referido dispnéia, não havendo tabagistas nos casos estudados. Cooke et al. (1999) descreveram quatro casos de esquistossomose aguda, em turistas que viajaram pela África, com grave comprometimento pulmonar, clínico e radiológico. Os achados clínicos foram de insuficiência respiratória, não evidenciando alterações significativas nas radiografias de tórax, mas o principal achado nesse estudo foi a presença de infiltrado intersticial pulmonar, diagnosticado via tomografia computadorizada. Em 2000, Schwartz, Rozenman e Perelman, estudando manifestações pulmonares de pacientes com esquistossomose aguda, sendo seis por *S. haematobium* e dois por *S. mansoni*, observaram múltiplos micronódulos nos raios X do tórax de sete deles, com quatro tendo o achado radiológico de nódulos pela tomografia computadorizada e um deles um infiltrado intersticial difuso. Em uma análise de 25 indivíduos que tiveram exposição simultânea às cercárias de *S. mansoni*, mostrou-se que a doença é mais grave em crianças do que em adultos, independentemente do grau de contato com a água, e também é mais grave em indivíduos com elevada carga parasitária, independendo da idade (Pedroso et al., 1987, 1991; Rabello, 1995).

Gráfico 1 – Principais manifestações clínicas e alterações na avaliação complementar em indivíduos com esquistossomose aguda, infectados na lagoa do Abaís, Sergipe, 1999

* A eosinofilia esteve presente em todos os pacientes avaliados (30), sendo que um paciente, do total dos 31, não realizou o leucograma no tempo zero (0).
Fonte: Jesus et al. (2002).

O segundo período da doença é o pós-patente (fase evolutiva pós-postural), quando há positivação do exame parasitológico de fezes e que, habitualmente, se inicia em torno de 45 a noventa dias após a infecção. A carga parasitária é relativamente elevada para uma primeira infecção; no estudo citado anteriormente, o número de ovos por grama de fezes variou de 96 a 216 (172,7; ± 32,45 ovos/g de fezes). Nesse período, pode haver persistência dos sintomas descritos, os quais freqüentemente desaparecem após cerca de 120 dias, segundo dados prévios (Neves, 1986, 1992; Montenegro et al., 1999). Porém, no estudo citado anteriormente, mesmo após cinco meses 11 pacientes (35,5%) ainda apresentavam astenia e dois (6,4%), esplenomegalia (Jesus et al., 2002). A eosinofilia persistiu em 29 pacientes (93,5%), a alteração da espirometria em três (9,7%), persistindo leve padrão restritivo, e a pericardite no ecodopplercardiograma persistiu em quatro indivíduos (12,9%), sendo que dois destes tiveram franca regressão em relação à primeira avaliação.

Como regra geral, a forma aguda evolui para cura, com ou sem tratamento. Raros casos evoluem para as formas hepatoesplênica ou cardiopulmonar. Conseqüências e complicações mais comuns são o abdome agudo, enterorragia, choque, polirradiculite e síndrome semelhante à de Guillain-Barré, insuficiência respiratória aguda (Neves, 1986; Davis, 1997; Junker, Eckardt & Husstedt, 2001).

PATOGÊNESE DA ESQUISTOSSOMOSE AGUDA

Ainda não estão bem estabelecidos os mediadores imunológicos da patogênese da forma aguda, nem a que antígenos essa resposta está dirigida. Como os sintomas muitas vezes ocorrem antes do amadurecimento do verme adulto e oviposição, acredita-se que os antígenos de esquistossômulos sejam importantes mediadores (Hiatt et al., 1979; Butterworth, 1993; Capron & Dessaint, 1985; Butterworth et al., 1994).

Em camundongos, principal modelo experimental utilizado em diversas doenças humanas e também na esquistossomose, foram descritos dois subtipos de linfócitos T CD4+, Th1 e Th2 com funções distintas. As células Th1 são produtoras das citocinas IFN-γ, IL-2 e TNF-α e auxiliam principalmente a resposta imune celular. As células Th2 são produtoras das citocinas IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 e auxiliam a resposta imune humoral (Malaquias et al., 1997; Mosmann & Moore, 1991; Chiaramonte et al., 1999). Como estas células exercem uma modulação entre si, por intermédio do IFN-³, que suprime a resposta Th2, e da IL-10, que suprime a resposta Th1, muitos autores buscam o entendimento dos mecanismos de resistência às doenças, bem como da patogênese pela imunomodulação entre esses dois tipos celulares. No curso da infecção por *S. mansoni* em camundongos, inicialmente há uma resposta imune tipo Th1, substituída por Th2 após a oviposição, mostrando que a IL-10 tem um papel importante no controle do processo inflamatório da infecção (Mosmann & Moore, 1991; Pearce et al., 1991, 1998; Wynn et al., 1998; Hoffmann, Cheever & Wynn, 2000). Adicionalmente, a injeção de antígenos do ovo de *S. mansoni* no animal com infecção recente também induz a uma mudança da resposta imune para Th2 (Pearce et al., 1991, 1998).

No homem, a resposta imune em indivíduos com a forma crônica da doença, residentes em áreas endêmicas, apresenta-se com um padrão Th2, com uma elevada produção de IL-5 e IL-10, e é caracterizada por eosinofilia e produção de IgE (Gazzinelli & Colley, 1992; Gazzinelli et al., 1987; Butterworth, 1998; Correa-Oliveira et al., 1998; Araújo et al., 1996; Jesus et al., 2000). Dados recentes mostram também que a resposta imune predominante no período pré-patente da forma aguda é do tipo Th1, com grande

produção de IFN-γ e baixa produção de IL-5, sendo a produção de IL-10 baixa nesse período e elevada 120 dias após a infecção, no período pós-patente (Jesus et al., 2002; Montenegro et al., 1999). Adicionalmente, a forma aguda é considerada rara em indivíduos cronicamente infectados de áreas endêmicas da doença. Sabendo-se que estes indivíduos de área endêmica têm uma resposta imune predominantemente Th2, é possível considerar que a resposta tipo Th1 seja mediadora de lesão tecidual e responsável pelo quadro clínico na esquistossomose aguda. Fortalece esta hipótese os dados da literatura da infecção por *S. mansoni* em camundongos *knockout* de IL-4 e IL-10, nos quais há morte dos camundongos por um quadro de hemorragia intestinal, caquexia e lesão hepática, sem haver um aumento do número de parasitas ou ovos. Considerados reprodutíveis da forma aguda da esquistossomose, esses animais apresentam uma falta de resposta Th2, moduladora de inflamação tissular, sendo a resposta inflamatória responsável pelo quadro clínico apresentado. As lesões hepáticas, por exemplo, foram associadas ao TNF-α (Brunet et al., 1997; Hoffman, Cheever & Wynn, 2000). Apesar desses dados, poucos estudos mostram uma associação entre sintomatologia clínica da forma aguda com marcadores imunológicos que expliquem sua patogênese.

Um dos pontos ainda obscuros é se saber quais antígenos desencadeiam a forma aguda. Segundo Bogliolo (1959), como a forma toxêmica ocorre antes da maturação dos vermes e da postura dos ovos, esse quadro seria devido à destruição maciça dos esquistossômulos. Contudo, muitos aspectos da patogênese da esquistossomose aguda ainda não estão bem estabelecidos. Por exemplo, destruição maciça de esquistossômulos ocorre principalmente na pele e nos pulmões, que em camundongos se dá tão cedo quanto de cinco a sete dias após a infecção (Andrade & Azevedo, 1987). No entanto, a sintomatologia clínica mais exuberante do período pré-patente se inicia entre 21 e 28 dias após a infecção, coincidindo com o período de transformação dos esquistossômulos em vermes adultos, os quais são detectados nos tecidos após 26 dias da infecção, podendo esta transformação ser uma fonte de antígenos circulantes. Ovos são detectados a partir de 37 dias após a infecção, sendo o único produto do parasito associado a lesão de hepatócitos, seguida de resposta inflamatória exsudativa exuberante, associada a infiltração de eosinófilos e macrófagos, podendo ser os antígenos do ovo os indutores da liberação de mediadores inflamatórios, importantes na patogênese da forma aguda (Andrade & Azevedo, 1987; Jesus et al., 2002). Mais recentemente, Okano et al. (1999) demonstraram a indução de resposta tipo 2 e IgE por carboidratos presentes na parede dos ovos de *S. mansoni*. Assim, não está muito claro como os antígenos do ovo podem induzir uma resposta inflamatória exuberante. A hipótese é que a resposta Th1 induzida pelos antígenos de esquistossômulo numa primeira exposição à infecção levaria à indução de uma resposta inflamatória exuberante a algum antígeno liberado pelo ovo. Com o passar do tempo, a indução da produção de IL-10 pelos carboidratos da parede do ovo levaria à modulação da resposta imune e dos sintomas, como é observado no período pós-patente. Assim, a produção de citocinas tipo Th2 nos pacientes crônicos pode ser um fator importante para explicar a proteção que estes apresentam para desenvolver os sintomas da forma aguda da doença (Correa-Oliveira et al., 1998; Jesus et al., 2000; Araújo et al., 1996; Gazzinelli et al., 1987).

A hipersensibilidade imediata sempre foi citada como um dos mecanismos imunopatogênicos da forma aguda na maioria dos estudos, com base nos sintomas respiratórios apresentados e na presença de eosinofilia (Hiatt et al., 1979; Lambertucci, 1995; Rocha et al., 1996; Lambertucci et al., 1997; Kager & Schipper, 2001). Essa suspeita de que a sintomatologia da forma aguda é relacionada à hipersensibilidade

tipo 1 ou mediada por IgE é também baseada no conhecimento de que nas infecções por helmintos, principalmente na esquistossomose, há uma predominância de resposta Th2, com produção de IL-4 e IL-5, havendo elevada produção de IgE (mediada por IL-4) e de eosinofilia (mediada por IL-5).

A reação de hipersensibilidade imediata é mediada por anticorpos IgE ligados à superfície de mastócitos, causando rápida degranulação destes, liberando produtos dos grânulos dessas células, mediadores inflamatórios, no tecido, que ativam a inflamação local, recrutando células e proteínas necessárias para a defesa do hospedeiro aos locais de infecção. O conteúdo dos grânulos de mastócitos possui diversas substâncias vasoativas e quimioatraentes que levam à vasta sintomatologia, as quais são bem conhecidas nos estados de alergia cutânea (urticária) e na asma. Os eosinófilos, atraídos a este sítio pelos produtos liberados por mastócitos, exercem o papel protetor na infecção, por meio da citotoxidade celular dependente de anticorpos IgE (Butterworth, 1993; Butterworth et al., 1996; Rocha et al., 1996). Contudo, caso a forma aguda fosse mediada por uma resposta Th2, seria esperado que os indivíduos de área endêmica tivessem uma forma aguda mais grave do que os primariamente infectados.

Assim, considerando que os indivíduos residentes de área endêmica não apresentam um quadro clínico exuberante, para esclarecer o tipo de resposta imune associada às manifestações clínicas da forma aguda da esquistossomose, no estudo recente que avaliou os 31 pacientes com a forma aguda, foi feita uma comparação de diversos parâmetros imunológicos entre os pacientes com a de pacientes com a forma crônica intestinal ou hepatointestinal, residentes na área endêmica de Caatinga do Moura, pareados por idade e grau de infecção.

Comparando-se os níveis de IgG e IgE total e específica para SEA e Swap em pacientes agudos com os de pacientes crônicos não foram observadas diferenças significantes entre os grupos (Gráfico 2). Apesar de as concentrações de IgE sérica serem semelhantes, pode haver diferenças na quantidade de IgE ligada a mastócitos, os quais estão ricamente distribuídos nos tecidos das mucosas. Contudo, as manifestações clínicas encontradas na forma aguda de esquistossomose não parecem ser mediadas por fenômenos de hipersensibilidade tipo I, pois os pacientes não apresentam broncoespasmo, apresentando a espirometria uma insuficiência ventilatória restritiva e os raios X de tórax um infiltrado intersticial. Não houve também correlação entre os níveis de IgE e a gravidade do quadro clínico ou as manifestações respiratórias.

Hiatt et al. (1979, 1980) detectaram imunocomplexos no soro de pacientes com a forma aguda de esquistossomose e sugeriram que os sinais e sintomas da fase aguda da doença poderiam ser mediados por depósitos nos vasos, promovendo ativação do sistema complemento e lesão de endotélio com extravasamento de fluidos para os tecidos, sugerindo a importância dos imunocomplexos circulantes na patogênese da esquistossomose aguda, comparando com a presença de baixos níveis de imunocomplexos em esquistossomose crônica. Posteriormente, Hiatt et al. (1980) confirmaram a presença de complexos imunes circulantes em 13 de 15 pacientes estudados com esquistossomose aguda, além de correlacionar os altos níveis com a intensidade da infecção e a gravidade da doença. Também se evidenciou correlação inversa entre níveis de imunocomplexos no soro e o número de eosinófilos nos pacientes com esquistossomose aguda.

No estudo descrito anteriormente, realizado nos 31 pacientes com esquistossomose aguda de Aracaju, complexos imunes circulantes (IC) foram detectados em vinte pacientes (64,5%), variando de 3,3 a 26,7µg Eq/ml (11,8 ± 7,8µg Eq/ml), sendo níveis abaixo do *cut off* (3,2µg Eq/ml) em todos os pacientes com a forma crônica e controles sadios (Gráfico 3).

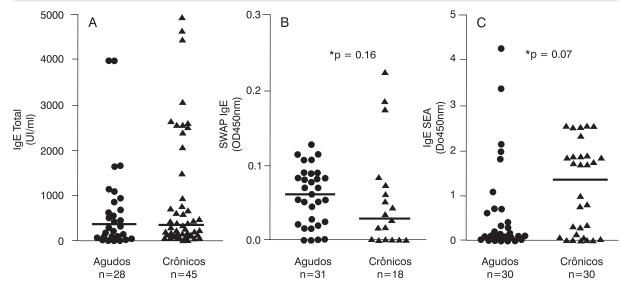
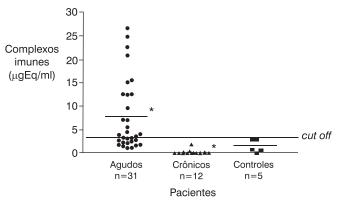
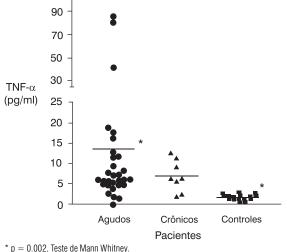
Gráfico 2 – Concentrações séricas de IgE total (A) e IgE específicas para os antígenos solúveis de vermes adultos (Swap) (B) e de ovos (SEA) (C) de *Schistosoma mansoni* em pacientes com as formas aguda e crônica de esquistossomose, pareados por idade e grau de infecção

* Teste de Mann Whitney.
Fonte: Jesus et al. (2002).

Gráfico 3 – Concentrações de imunocomplexos no soro de pacientes com as formas aguda e crônica de esquistossomose, pareados por idade e grau de infecção e controles sadios não residentes em área endêmica de esquistossomose. *Cut off* de acordo com o kit (3,2 mg Eq/ml)

* p = 0,0001 Mann Whitney.
Fonte: Jesus et al. (2002).

Dos 25 pacientes que apresentaram tosse, em 17 (68,0%) foram detectados IC, e em quatro destes (16,0%) foi diagnosticado pericardite no ecocardiograma. Dos 12 pacientes com queixa de dor torácica, em nove (75,0%) foi detectado IC e, dos 16 pacientes com sintoma de dispnéia, em 12 (75,0%) também foi detectado IC. Foi observada uma relação estatisticamente significante entre altos níveis de IC e dispnéia ($p = 0,04$; $\chi^2 = 3,91$ por Mantel-Haenszel); e IC e infiltrado intersticial nos raios X do tórax ($p = 0,03$; $\chi^2 = 4,81$

por Mantel-Haenszel). Dos pacientes com alteração radiológica (n = 7), todos apresentaram altos níveis de IC. Pericardite foi diagnosticada em seis pacientes (30,0%) dos 31, todos com IC em níveis elevados. Houve associação significante entre pericardite e a detecção de imunocomplexos no soro (p= 0,05; χ^2= 3,96 por Mantel-Haenszel). Os níveis de IC foram mais elevados nos pacientes com pericardite (média ± DP = 14,3; ± 8,5µg Eq/ml) do que nos pacientes sem pericardite (9,5; ± 7,3µg Eq/ml).

Concentrações elevadas de TNF-α foram detectadas nos soros de 26 dos 31 pacientes (87%) com esquistossomose aguda (média ± DP = 13,4 ± 20,5) e em nenhum paciente com a forma crônica (6,9 ± 3,9) ou em controles sadios (1,7 ± 0,6). Foi encontrada uma associação entre concentrações elevadas de TNF-α e dor abdominal (p = 0,02, teste de Fisher) e uma tendência a associação com perda de peso (Gráfico 4).

Gráfico 4 – Concentrações de TNF-α no soro de pacientes com as formas aguda e crônica de esquistossomose, pareados por idade e grau de infecção e controles sadios não residentes em área endêmica de esquistossomose

* p = 0.002, Teste de Mann Whitney.
Fonte: Jesus et al. (2002).

As concentrações das citocinas pró-inflamatórias (TNF-α, IL-1 e IL-6) em sobrenadantes de cultura de células mononucleares do sangue periférico (PBMC) não estimuladas foram bastante elevadas em todos os pacientes com esquistossomose aguda, estando ausentes ou baixas nos pacientes com a forma crônica da doença. Na reavaliação de dez pacientes, cinco meses após a avaliação inicial, houve uma redução das concentrações dessas citocinas em relação às iniciais, apesar de ainda persistirem elevadas (Tabela 1).

Quando a resposta imune específica a antígenos do parasito (Swap e SEA) foi comparada entre os pacientes com as formas aguda e crônica da esquistossomose, foi observada uma produção predominante de IFN-γ nos pacientes com a forma aguda, com baixa produção de IL-5, havendo uma resposta inversa nos pacientes com a forma crônica, com produção elevada de IL-5 e baixa de IFN-γ (Gráfico 5).

Concluindo, a esquistossomose aguda pode ser uma doença grave e os mecanismos patogênicos envolvidos em suas manifestações clínicas ainda não estão completamente esclarecidos. Antígenos do parasito, liberados no período pré-patente (possivelmente de esquistossômulos ou vermes adultos), são

importantes para induzir uma resposta imune tipo Th1 nesses indivíduos, os quais respondem a produtos antigênicos liberados pelo ovo ou por esquistossômulos em transformação para vermes adultos com a produção de complexos imunes circulantes e de citocinas pró-inflamatórias como IL-1, IL-6 e TNF-α, sendo este último detectado mesmo no soro dos pacientes. Diante desse perfil de resposta imune, há uma deposição de complexos imunes nas paredes dos vasos, ativação do sistema complemento, passagem de fluidos e células para os tecidos, mediadas por produtos da clivagem do complemento e pelas citocinas IL-1 e TNF-α, levando aos sintomas sistêmicos descritos e lesões em pulmão (infiltrado intersticial com insuficiência respiratória restritiva), pericardite e hepatite.

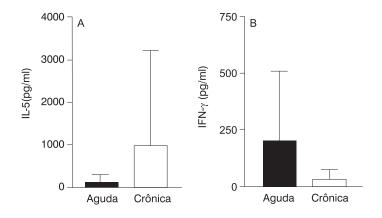
Tabela 1 – Concentrações das citocinas pró-inflamatórias IL-1, IL-6 e TNF-α no soro e em sobrenadantes de PBMC não estimuladas, em pacientes de Aracaju com esquistossomose aguda, na primeira avaliação clínica e cinco meses após o tratamento

	Média ± DP		
Citocinas (pg/ml)	Primeira observação clínica n= 31	Cinco meses após tratamento n= 10	"p" [a]
IL-1	2683,2 ± 270,1	1456 ± 2205,9	0,13
IL-6	381,8 ± 52,3	587,8 ± 683,2	0,093
TNF-α	1349,3 ± 767,6	576,0 ± 782,0	0,002
TNF-α soro [b]	13,4 ± 20,5	1,7 ± 1,0	0,002

[a] Análise realizada apenas com os dez pacientes com esquistossomose aguda que foram reavaliados após cinco meses do tratamento, Teste de Mann-Whitney.

[b] A amostra (n) de pacientes testados neste item foi de trinta.

Fonte: Jesus et al. (2002).

Gráfico 5 – Concentrações de IFN-γ em sobrenadantes de células mononucleares do sangue periférico (PBMC) estimuladas por Swap de pacientes com as formas aguda e crônica de esquistossomose, pareados por idade e grau de infecção

Concentrações de IFN-γ e IL-5 no soro de pacientes agudos e crônicos, p=0,01, Teste de Mann Whitney.

Fonte: Jesus et al. (2002).

A eosinofilia é o principal achado laboratorial dos pacientes com esquistossomose aguda, sendo um bom marcador para o diagnóstico. Contudo a eosinofilia persistiu por cinco meses, mesmo após diminuição dos sintomas clínicos, embora com redução em relação aos níveis iniciais. Mesmo assim, não se pode negar o papel do eosinófilo como mediador de lesão tecidual, por liberação do conteúdo de seus grânulos nos tecidos. De fato, estudo prévio de Andrade & Azevedo (1987), em camundongos, mostra que após 33 dias da infecção há uma lesão necrótica de hepatócitos, em torno dos ovos de *S. mansoni*, com uma infiltração de eosinófilos e macrófagos, sugerindo que estas células da resposta imune inata podem participar das lesões teciduais na forma aguda.

O quadro clínico sintomático não é observado em pacientes com a forma crônica da esquistossomose, possivelmente devido ao *background* de resposta Th2, demonstrado por produção mais elevada de IL-5 em resposta aos antígenos do parasito nesses pacientes, ou mesmo pela indução de células T reguladoras, descritas mais recentemente em outras doenças crônicas. A produção de citocinas antiinflamatórias como IL-10, protegeria os pacientes crônicos de desenvolverem a forma aguda da esquistossomose. Por fim, os dados atuais reforçam a descrição da forma aguda como um quadro de sepse, conforme descrito por Neves (1986), sendo as citocinas pró-inflamatórias e os complexos imunes considerados mediadores importantes da síndrome. Na Figura 1 observa-se o tempo após infecção, as formas do parasito e suas localizações nos tecidos, bem como mecanismos patogênicos para a esquistossomose aguda.

Figura 1 – Evolução da infecção por *Schistosoma mansoni*, associando as formas do parasito e sua localização com a resposta imune identificada

PERSPECTIVAS

Os mecanismos patogênicos envolvidos nas manifestações clínicas da fase aguda da esquistossomose, bem como a que antígenos a resposta imunológica está dirigida, ainda não estão bem estabelecidos. Estudos detalhados enfocando esses aspectos contribuirão para elucidar tais questões.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, Z. A. & AZEVEDO, T. M. A contribution to the study of acute schistosomiasis (an experimental trial). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82(3): 311-317, 1987.

ARAUJO, M. I. et al. Evidence of a T helper type 2 Activation in human schistosomiasis. *European Journal of Immunology*, 26: 1.399-1.403, 1996.

BARBOSA, C. S. et al. An outbreak of acute schistosomiasis at Porto de Galinhas beach, Pernambuco, Brazil. *Caderno de Saúde Pública*, 17(3): 725-728, 2001.

BINA, J. C. Influência da terapêutica específica na evolução da esquistossomose mansônica. *Revista Patologia Tropical*, 10: 221-267, 1981.

BOGLIOLO L. *Subsídios para o Estudo da Anatomia Patológica da Forma Toxêmica da Esquistossomose Mansônica*, 1959. Tese de Doutorado, Belo Horizonte: Faculdade Medicina da Universidade de Minas Gerais.

BOGLIOLO, L. & NEVES, J. Ocorrência de hepatite na forma aguda ou toxêmica da esquistossomose mansônica, antes da maturação dos vermes e da postura dos ovos, com algumas considerações sobre a forma aguda ou toxêmica da esquistossomose. *Anais da Faculdade de Medicina da Universidade de Minas Gerais*, 22: 47-74, 1965.

BRUNET, L. R. et al. Il-4 protects against TNF-alpha- mediated cachexia and death during acute schistosomiasis. *Journal of Immunology*, 159: 777-785, 1997.

BUTTERWORTH, A. E. Immunology of Schistosomiasis. In: JORDAN, P.; WEBBE, G. & STURROCK, R. F. (Eds.) *Human Schistosomiasis*. Londres: William Heinemann Medical Books, 1993.

BUTTERWORTH, A. E. Immunological aspects of human schistosomiasis. *Brazilian of Medicine Bulletin*, 54(2): 357-368, 1998.

BUTTERWORTH, A. E. et al. Immunity and morbidity in human schistosomiasis. *Tropical Geographical Medicine*, 46: 197-208, 1994.

BUTTERWORTH, A. E et al. Immunity and morbidity in *Schistosoma mansoni* infection: quantitative aspects. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene,* 55: 109-115, 1996.

CAPRON, A. & DESSAINT, J. P. Effector and regulatory mechanisms in immunity to schistosomes: a heuristic view. *Annals Review of Immunology*, 3: 455-476, 1985.

CHIARAMONTE, M. G. et al. IL-13 is a key regulatory cytokine for Th2 cell-mediated pulmonary granuloma formation and IgE responses induced by *Schistosoma mansoni* eggs. *Journal of Immunology*, 162: 920-930, 1999.

COOKE, G. S. et al. Acute pulmonary schistosomiasis in travelers returning from Lake Malawi, sub-Saharan Africa. *Clinical Infectious Diseases*, 29(4): 836-839, 1999.

CORREA-OLIVEIRA, R. et al. Cytokines as determinants of resistance and pathology in human *Schistosoma mansoni* infection. *Brazilian Journal of Medicine and Biological Research*, 31: 171-177, 1998.

DAVIS, A. *Schistosomiasis*. In: COOK, G. C. (Ed.) *Manson's Tropical Diseases*. Londres: Saunders, 1997.

GAZZINELLI, G. & COLLEY, D. G. Human immune responses during schistosomiasis mansoni. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 25: 125-134, 1992.

GAZZINELLI, G. et al. Immune response in different clinical groups of schistosomiasis patients. *Molecular Biochemical and Parasitology*, 82: 95-100, 1987.

HIATT, R. A. et al. Factors in the pathogenesis of acute schistosomiasis mansoni. *Journal of Infectious* Diseases, 139: 659-666, 1979.

HIATT, R. A. et al. Serial observations of circulating immune complexes in pacients with acute schistosomiasis. *Journal Infectious Diseases*, 142(5): 665-670, 1980.

HOFFMANN, K. F.; CHEEVER, A. W. & WYNN, T. A. Il-10 and the dangers of immune polarization: excessive type 1 and type 2 cytokine responses induce distinct forms of lethal immunopathology in murine schistosomiasis. *Journal of Immunology*, 164: 6.406-6.416, 2000.

JESUS, A. R. et al. Human immune responses to *Schistosoma mansoni* vaccine candidate antigens. *Infectious Immunology*, 68(5): 2.797-2.803, 2000.

JESUS, A. R. et al. Clinical and immunologic evaluation of 31 patients with acute schistosomiasis mansoni. *Journal of Infectious Diseases*, 185: 98-105, 2002.

JUNKER, J.; ECKARDT, L. & HUSSTEDT, I. Cervical intramedullar schistosomiasis as a rare cause of acute tetraparesis. *Clinical Neurology and Neurosurgical*, 103(1): 39-42, 2001.

KAGER, P. A. & SCHIPPER, H. G. Acute schistosomiasis: fever and eosinophilia, with or without urticaria, after a trip to Africa. *Ned Tijdschr Geneeskd*, 145(5): 220-225, 2001.

LAMBERTUCCI, J. R. Acute schistosomiasis: clinical, diagnostic and therapeutic features. *Revista do Instituto de Medicina Tropica de São Paulo*, 35(5): 399- 404, 1993.

LAMBERTUCCI, J. R. Treatment of schistosomiasis: gathering stones together. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90(2): 161-164, 1995.

LAMBERTUCCI, J. R. et al. Acute schistosomiasis: report on five singular cases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92: 631-635, 1997.

LAWLEY, T. J. et al. Circulating immune complexes in acute schistosomiasis. *Clinical Experimental Immunology*, 37: 221-227, 1979.

MALAQUIAS, L. C. et al. Cytokine regulation of human immune response to *Schistosoma mansoni*: analysis of the role of IL-4, IL-5 and IL-10 on peripheral blood mononuclear cell responses. *Scandinavian Journal of Immunology*, 46 (4): 393-398, 1997.

MONTENEGRO, S. M. et al. Cytokine production in acute versus chronic human schistosomiasis mansoni: the cross-regulatory role of interferon-gamma and interleukin-10 in the responses of peripheral blood mononuclear cells and splenocytes to parasite antigens. *Journal of Infectious Diseases*, 179(6): 1.502-1.514, 1999.

MOSMANN, T. R. & MOORE, K. W. The role of IL-10 in crossregulation of Th1 and Th2 response. *Immunoparasitology Today*, 12: A49-A53, 1991.

NEVES, J. *Esquistossomose Mansônica: clínica da forma aguda ou toxêmica*. Rio de Janeiro: Medsi, 1986.

NEVES, J. Forma aguda ou toxêmica da esquistossomose mansônica / Acute or toxemic form of mansoni's schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*; 87, supl. 4: 321-324, 1992.

OKANO, M. et al. Introduction of Th2 responses and IgE is largely due to carbohydrates functioning as adjuvants on *Schistosoma mansoni* egg antigens. *Journal of Immunology*, 163(12): 6.712-6.717, 1999.

PEARCE, E. J. et al. Downregulation of Th1 cytokine production of Th2 responses to a parasitic helminth, *Schistosoma mansoni*. *Journal of Experimental Medicine*, 173: 159-166, 1991.

PEARCE, E. J. et al. The inhibition and function of Th2 responses during infection with *Schistosoma mansoni*. *Advances in Experimental of Medicine and Biology*, 452: 67-73, 1998.

PEDROSO, E. R. P. et al. Bowel X-ray alterations in acute human schistosomiasis. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 20(3): 159-162, 1987.

PEDROSO, E. R. P. et al. Avaliação clínico-patológica de pacientes com esquistossomose mansônica aguda, toxêmica. *Revista Médica de Minas Gerais*, 1(1): 6-8, 1991.

PESSOA, S. B. & MARTINS, A. V. Trematódios parasitas do sistema snaguíneo-*Schistosoma mansoni*. In: KOOGAN, G. (Ed.) *Parasitologia Médica*. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1977.

PRATA, A. Esquistossomose mansônica. In: VERONESI, R. & FOCACCIA, R. (Eds.) *Tratado de Infectologia*. São Paulo: Atheneu, 1997.

RABELLO, A. Acute human schistosomiasis mansoni. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90(2): 277-280, 1995.

ROCHA, M. et al. Pathogenetic factors of acute schistosomiasis mansoni: correlation of worn burden, IgE, blood eosinophilia and intensity of clinical manifestations. *Tropical Medicine International Health*, 1(2): 213-220, 1996.

SCHWARTZ, E.; ROZENMAN, J. & PERELMAN, M. Pulmonary manifestations of early schistosome infection among nonimmune travelers. *American Journal of Medicine*, 109(9): 718-722, 2000.

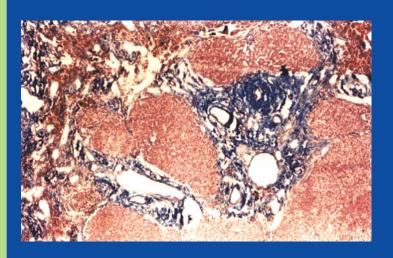
WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Second Report of the WHO Expert Committee: the control of schistosomiasis*. Geneva: WHO, 1993. (WHO Technical Report Series, 830)

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO)/THE UNITED NATIONS CHILDREN'S FUND (UNICEF). *Joint Programme on Data Management and Mapping for Public Health*. Geneva: WHO, 1995. (Health Map brochure)

WYNN, T. A. et al. IL-10 regulates liver pathology in acute murine schistosomiasis mansoni but is not required for immune down-modulation of chronic disease. *Journal of Immunology*, 160: 4.473-4.480, 1998.

22 A Resposta Imune na Forma Crônica da Esquistossomose Mansoni

Andréa Teixeira Carvalho
Olindo Assis Martins Filho
Rodrigo Corrêa de Oliveira

Fotomicrografia do fígado de paciente portador da forma clínica hepatoesplênica da esquistossomose mansoni, observando-se áreas de fibrose intersticial ao redor do espaço porta, onde o colágeno aparece corado em azul pelo tricrômio de Masson; aumento de 100x.

A infecção humana por *Schistosoma* apresenta uma curva característica de idade-prevalência cujo pico se dá durante a segunda década de vida que, de maneira geral, coincide com o número de ovos por grama de fezes apresentado pelos indivíduos infectados. Os fatores que determinam a diminuição da prevalência e intensidade de infecção (determinada pelo número de ovos por grama de fezes) são vários. Dentre os mais estudados estão a intensidade de contato com águas, mudanças em hábitos e relação com o meio ambiente, espessamento da pele, que ocorre com a idade, genética da população e a resposta imune. Neste capítulo, serão discutidos os fatores relacionados à resposta imune, que certamente tem papel fundamental tanto no desenvolvimento de resistência e susceptibilidade à infecção, como na morbidade da doença.

Durante a fase crônica da infecção podem surgir os sinais de progressão da doença em diversos órgãos, principalmente fígado, baço e intestino, chegando a atingir graus extremos de severidade. As manifestações clínicas variam, dependendo da localização e intensidade do parasitismo, da capacidade de resposta imune do indivíduo infectado, bem como do estabelecimento de medidas terapêuticas eficazes. Nesse contexto, a doença pode apresentar-se sob a forma clínica intestinal, freqüente em 90% dos indivíduos cronicamente infectados; sob a forma clínica hepatointestinal, com sinais e sintomas intestinais associados à hepatomegalia; e sob a forma clínica hepatoesplênica, que acomete de 10% a 15% dos pacientes portadores da esquistossomose, sendo caracterizada pelos sintomas mais graves da doença. Nesse caso, a reação imunológica de hipersensibilidade retardada do tipo granulomatosa é o principal fator desencadeador da patologia (Andrade & Warren, 1964). A forma hepatoesplênica descompensada, caracterizada por alta taxa de letalidade, é acompanhada por hipertensão portal com esplenomegalia, varizes esofagianas hemorrágicas, além de ascite associada a provas de avaliação hepática significativamente alteradas. O baço se mostra aumentado, devido à hipertrofia reticuloendotelial e à congestão venosa portal. O hiperesplenismo característico pode ser o resultado de todo este processo (Bogliolo, 1959; Bassily et al., 1979).

IMUNORREGULAÇÃO NA ESQUISTOSSOMOSE HUMANA: CONTRIBUIÇÃO DA RESPOSTA IMUNE PARA OS MECANISMOS DE PROTEÇÃO E PATOLOGIA

Durante a fase crônica da infecção, os estudos realizados em modelos experimentais murinos mostram que a patologia esquistossomótica é desencadeada principalmente pelos granulomas formados por meio de uma reação imunológica em resposta aos ovos do parasito retidos nos tecidos do hospedeiro. Antígenos solúveis do ovo induzem uma reação granulomatosa por meio de uma resposta imune de hipersensibilidade retardada mediada por células T CD4+ (Warren, 1972; Warren, Domingo & Cowan, 1976; Mathew & Boros, 1986). A dinâmica da reação granulomatosa apresenta pelo menos três estágios bem definidos: a formação do granuloma durante a fase aguda da infecção, a manutenção da reatividade granulomatosa e a regulação/modulação do granuloma na fase crônica da infecção (Andrade & Warren, 1964). O estágio inicial de formação do granuloma envolve a participação de moléculas de adesão que desempenham um papel primordial, promovendo o contato célula-célula necessário para o desenvolvimento da inflamação (Bevillaqua, 1993). A interação predominante observada ocorre entre a molécula de adesão celular-I (ICAM-I) e o seu receptor, denominado antígeno funcional de leucócitos-1 (LFA-1) (Ritter & Mckerrow, 1996). O aumento da expressão de ICAM-1 é induzido por Interleucina (IL)-1, Interferon-gama (INF-gama) ou pelo Fator de Necrose Tumoral-alfa (TNF-alfa) (Dustin et al., 1986). O TNF-alfa e a ICAM-I participam da ativação de linfócitos e, conseqüentemente, da formação do granuloma (Lukac et al., 1994). As citocinas mais abundantes no granuloma experimental são a IL-2 e a IL-4 (Yamashita & Boros, 1992). Neste início, também estão presentes TNF-alfa e IFN-gama (Boros, 1994), que são elementos essenciais, uma vez que participam do processo de recrutamento primário de células para a implantação do granuloma. Nesta fase, o granuloma é predominantemente celular, formado, principalmente, por eosinófilos, macrófagos, linfócitos, alguns neutrófilos e células gigantes multinucleadas (Raso, 1994; Weinstock, 1992).

Na segunda fase de formação do granuloma, na qual o seu diâmetro apresenta-se maior, há um predomínio das citocinas IL-4 e IL-5 (Chensue et al., 1993). IL-4 desempenha o principal papel regulador na formação do granuloma (Yamashita & Boros, 1992), enquanto IL-5 aumenta o recrutamento de eosinófilos, a proliferação e diferenciação de células B (Weinstock, 1992; Sher et al., 1990).

Após a fase aguda da doença, o granuloma diminui de tamanho, resultando na redução da inflamação ao redor dos ovos, processo denominado de imunomodulação (Andrade & Warren, 1964). Nessa fase, linfócitos T CD4+ específicos ativados secretam citocinas que promovem a regulação do granuloma (Weinstock & Blum, 1987).

Provavelmente, a modulação da resposta imune e a hipossensibilidade aos antígenos do ovo ocorrem devido à modulação das células T (Stadecker, 1992; Stadecker & Flores-Villanueva, 1992) e a IL-10 desempenha papel importante nesse contexto (Flores-Villanueva et al., 1993). Em modelos experimentais, foi observado que a modulação da resposta de células T pode ser desencadeada também pelo Fator de Transformação do Crescimento (TGF-beta) (Czaja, Giambran & Zern, 1987), assim como pela IL-12 (Wynn & Cheever, 1995). Na esquistossomose experimental, pode-se citar, ainda, fatores efetores supressores/reguladores de células T (Perrin & Philips, 1989), complexos imunes (Bonney et al., 1978) e a liberação de substâncias antiinflamatórias, via interação de anticorpos e seus receptores Fc (Jankovic et al., 1998). Numa etapa posterior, as células presentes no granuloma secretam citocinas, como IL-1, TNF-alfa, o Fator de Crescimento para Fibroblastos (FGF), o TGF-beta e o Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas

(PDGF), que estimulam a atividade fibroblástica, levando à proliferação de células capazes de sintetizar colágeno, como os macrófagos, fibroblastos, hepatócitos, dentre outras (Wyler, 1992). Essas citocinas fibrogênicas liberadas das células inflamatórias que compõem o granuloma representam a ligação molecular entre a inflamação periovular e a fibrose hepática.

Um número considerável de trabalhos na literatura utilizando modelos murinos tem evidenciado o envolvimento de subpopulações distintas de células T na resposta imune frente aos ovos de *S. mansoni.* Células T CD4+ desempenham um papel crucial tanto no desenvolvimento dos granulomas murinos, quanto nos eventos de modulação da reatividade granulomatosa (Mathew & Boros, 1986). Enquanto a resposta imune predominante nos antígenos dos vermes de *S. mansoni* parece estar direcionada para a produção de citocinas por células do Tipo 1, dados ainda controversos vêm sendo obtidos para o verdadeiro papel das células Tipo 1 e Tipo 2 e das citocinas secretadas por elas no desenvolvimento da resposta granulomatosa, após a deposição de ovos nos tecidos do hospedeiro (Wynn & Cheever, 1995). Dados na literatura evidenciaram que tanto células do tipo Th1 secretando IFN-gama e IL-2, como células do tipo Th2, secretando IL-4 e IL-10, tornam-se sensibilizadas e contribuem para a formação do granuloma (Stadecker & Flores-Villanueva, 1994). No entanto, durante a fase crônica da infecção, a resposta do tipo Th1 é drasticamente reduzida e as funções associadas à resposta do tipo Th2, bem como a eosinofilia e a produção de anticorpos, persistem (Colley, 1975; Pearce & Macdonald, 2002).

Em relação à patologia no homem, há uma modulação nas respostas ao antígeno solúvel de ovos de *S. mansoni* (SEA), após a instalação de um estágio de infecção crônica assintomática (Colley et al., 1986). Já se encontra bem estabelecido que a maioria dos indivíduos infectados por *S. mansoni*, residentes em áreas endêmicas para a esquistossomose, que desenvolvem uma fase crônica assintomática apresentam uma resposta do Tipo 2 caracterizada predominantemente por IL-4 e IL-5 (Araújo et al., 1996; Malaquias et al., 1997; Montenegro et al., 1999). Vários estudos têm demonstrado que os pacientes que apresentam essa forma clínica desenvolvem mecanismos que estão envolvidos no controle da resposta imune, com conseqüente redução do tamanho dos granulomas (Bogliolo, 1959; Raso, 1994), enquanto os pacientes que apresentam a forma clínica hepatoesplênica são incapazes de modular a resposta imune contra a infecção. Diversos mecanismos envolvidos nesse controle da resposta imune já foram descritos, por meio de ensaios de proliferação de células mononucleares do sangue periférico (PBMC) *in vitro*, na presença de estimulação antígeno-específica. Entre outros, pode-se citar a modulação da resposta de células T por anticorpos anti-idiotipos (Lima et al., 1986; Doughty et al., 1989; Parra et al., 1991), a participação de linfócitos T CD8+ (Doughty & Philips, 1982) e a influência de IL-10 (Araújo et al., 1996; Malaquias et al., 1997; Falcão et al., 1998). Outros fatores que também contribuem para modulação da resposta imune durante essa forma clínica são a regulação da proliferação celular por fatores solúveis presentes no plasma dos pacientes (Colley et al., 1977), o papel de células aderentes no controle da proliferação linfocitária (Ottesen, 1979), bem como o envolvimento de prostaglandinas e de IL-10 na resposta imune induzida por imunocomplexos (Goes et al., 1994; Rezende et al., 1997; Rezende, Lambertucci Jr. & Goes, 1997).

Investigações adicionais demonstram que durante a infecção humana por *S. mansoni* há um padrão diferenciado de produção de citocinas por células mononucleares de pacientes portadores das diferentes formas clínicas da doença (de Jesus et al., 1993; Viana et al., 1994; Malaquias et al., 1997; Corrêa-Oliveira et al., 1998; Montenegro et al., 1999; Brito et al., 2000). Alguns desses estudos mostraram que, em ensaios de proliferação celular *in vitro*, a adição de anticorpos anti-IL-10 leva a um aumento da

reatividade de PBMC de pacientes portadores da forma clínica intestinal, frente a estímulos específicos do parasito (Araújo et al., 1996; Malaquias et al., 1997). A análise da reatividade *in vitro* de PBMC de indivíduos portadores da forma clínica intestinal da esquistossomose sugere que a produção de IL-10 pelas PBMC é um dos eventos primordiais na modulação da resposta imune observada naqueles indivíduos (Malaquias et al., 1997; Montenegro et al., 1999). O estabelecimento da fase crônica intestinal está correlacionado a uma redução no percentual de células T CD4+ ativadas, que se associa diretamente com a elevação da produção de IL-10 por células mononucleares estimuladas *in vitro* e com a modulação da reatividade celular antígeno-específica (Corrêa-Oliveira et al., 1998). Por outro lado, os baixos níveis de IL-10 observados em culturas de células de pacientes portadores da forma clínica hepatoesplênica correlacionam-se com a elevação do percentual de linfócitos T CD4+ ativados no sangue periférico e com a alta reatividade celular antígeno-específica nos ensaios de reatividade celular *in vitro* (Malaquias et al., 1997; Martins-Filho et al., 1997; Falcão et al., 1998; Corrêa-Oliveira et al., 1998). Estudos mais detalhados de aspectos fenotípicos e funcionais dos linfócitos T durante a infecção crônica assintomática demonstraram que linfócitos T CD4+ são a principal fonte de IL-10, comprovando o seu papel central na modulação da resposta imune durante a infecção crônica por *S. mansoni* (Teixeira-Carvalho, 2004). Vários estudos também demonstram que a produção de IFN-gama *in vitro* por PBMC de indivíduos portadores de infecção crônica esquistossomótica, após estimulação antígeno-específica, é extremamente pequena, independente da forma clínica apresentada pelo paciente (Zwingenberger et al., 1989; Bahia-Oliveira et al., 1992; Viana et al., 1994; Araújo et al., 1996). Essas informações sugerem que, durante a infecção por *S. mansoni*, a produção de IFN-gama parece não ser o evento principal no controle da proliferação de linfócitos T em indivíduos portadores da fase crônica da doença. Por outro lado, estudos desenvolvidos por Teixeira-Carvalho (2004) mostraram uma produção significativa de IFN-gama por linfócitos do sangue periférico de pacientes cronicamente infectados por *S. mansoni*, portadores da forma clínica assintomática ou hepatoesplênica. Acredita-se que diferenças metodológicas como, por exemplo, o cultivo de PBMC *versus* a utilização de leucócitos totais ou o uso de soro humano AB+ *versus* plasma autólogo foram responsáveis pelos resultados, a princípio, conflitantes.

Paralelamente aos estudos de proliferação celular *in vitro*, diversos investigadores têm focalizado sua atenção em aspectos relevantes da resposta imune no contexto *ex vivo*. Em relação à avaliação *ex vivo* do fenótipo celular no sangue periférico de indivíduos infectados por *S. mansoni*, a análise pioneira realizada por Zwingenberger et al. (1989) já demonstrava uma alteração na composição celular dos linfócitos circulantes. Esses investigadores observaram que os pacientes portadores da forma clínica hepatoesplênica apresentavam uma diminuição na freqüência de células CD3+ e um aumento na freqüência de células CD8+. Posteriormente, um estudo detalhado realizado por Martins-Filho et al. (1997) demonstrou um aumento do número de linfócitos T CD4+ ativados no sangue periférico dos pacientes apresentando a forma clínica hepatoesplênica, sendo a intensidade dessa expansão celular diretamente relacionada à patogenia da infecção. Esses resultados corroboram a existência de diferentes subpopulações de linfócitos T CD4+, que podem estar correlacionadas ao desenvolvimento de patologia ou de mecanismos moduladores da resposta imune, via produção de diferentes fatores solúveis. Em relação à população de linfócitos T CD8+, existe uma elevação no percentual de células ativadas apenas durante a fase crônica da infecção, tanto em indivíduos portadores da forma clínica intestinal, quanto em indivíduos portadores da forma clínica hepatoesplênica. Provavelmente, uma dicotomia na população de linfócitos CD8+ seria a responsável

pela diferença de resposta imune nos dois grupos de indivíduos, sendo a redução no percentual de linfócitos T CD8+CD28+ um elemento-chave neste processo (Martins-Filho et al., 1999).

Contigli et al. (1999) avaliaram clones e linhagens de células T isoladas de pacientes portadores da forma clínica aguda ou crônica da esquistossomose. Os resultados encontrados revelaram um padrão diferenciado de produção de citocinas em ambos os grupos de indivíduos. Clones de células T CD4+ derivados de indivíduos infectados apresentaram um perfil Th2/Th0, produzindo IL-4 e IL-5 ou IL-4, IL-5 e IFN-gama, enquanto clones derivados de doadores não infectados, sensibilizados *in vitro* com antígenos de *S. mansoni*, apresentaram um perfil Th1/Th0, produzindo IFN-gama ou IL-4, IL-5 e IFN-gama.

A análise da reatividade celular frente a antígenos de ovos e vermes adultos de *S. mansoni* também foi realizada por Mwatha et al. (1998) em crianças africanas portadoras da forma clínica hepatoesplênica da esquistossomose. Esse trabalho demonstrou uma associação entre a forma hepatoesplênica da doença e o perfil de resposta imune predominantemente do tipo 1 (altos níveis de TNF-alfa e IFN-gama, mas baixos níveis de IL-5), enquanto a ausência dessa forma clínica estava relacionada à resposta imune do tipo 2 (altos níveis de IL-5, mas baixos níveis de TNF-alfa e IFN-gama).

INFLUÊNCIA DOS RECEPTORES DE QUIMIOCINAS NA RESPOSTA IMUNE DURANTE A ESQUISTOSSOMOSE MANSONI HUMANA

A resposta imune, bem como a inflamação granulomatosa associada à infecção por *S. mansoni* abrangem vias múltiplas, envolvendo a ativação e o recrutamento de populações celulares distintas e a produção de diferentes citocinas inflamatórias, elementos que se encontram sob a influência de numerosos fatores solúveis, ativadores e reguladores da resposta imune. Nesse contexto, as quimiocinas e seus receptores são elementos fundamentais no processo de recrutamento de leucócitos. Do ponto de vista molecular, a posição relativa de um resíduo de cisteína na molécula define quatro motivos estruturais para os receptores de quimiocinas (CC, CXC, C e CX_3C). Até o momento, diversos receptores de quimiocinas humanas já foram identificados: receptores para as quimiocinas CC (denominados CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10, CCR11 etc.), receptores para as quimiocinas CXC (denominados CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, CXCR6 etc.), além do receptor CX_3CR1 (Murphy, 1994; Murdoch & Finn, 2000; Zlotnik & Yoshie, 2000; Moser et al., 2004).

Recentes avanços na análise de receptores de quimiocinas demonstraram que sua expressão é um importante evento na diferenciação e polarização da resposta imune mediada por células T e na diferenciação da resposta imune para o Tipo 1 e Tipo 2 (Bonecchi et al., 1998; Sallusto, Lanzavecchia & Mackay, 1998). Assim, a expressão dos receptores CXCR3, CCR1 e CCR5 tem sido associada a uma resposta do Tipo 1. Por outro lado, os receptores CCR3, CCR4 têm sido associados a uma resposta do Tipo 2; CCR2, a uma resposta do Tipo 0, enquanto CXCR4 e CCR7 estão relacionados a células T não primadas por antígeno (Sallusto et al., 1998).

Até o momento, existem poucos trabalhos na literatura abordando o papel dos receptores de quimiocinas na infecção esquistossomótica. Estudo pioneiro avaliando o perfil de receptores de quimiocinas na infecção em humanos foi realizado por Teixeira-Carvalho (2004). Esse estudo revelou que os pacientes portadores da forma clínica intestinal apresentam um perfil preferencialmente do Tipo 2 modulado, sendo caracterizado pelo aumento da freqüência de linfócitos totais positivos para CCR2, associado a um aumento do percentual

de linfócitos T CXCR4+ e a uma diminuição da freqüência de linfócitos T CXCR3+ na análise após estimulação *in vitro*. Esses achados mostraram que os pacientes do grupo INT apresentam preferencialmente uma resposta imune modulada. Por outro lado, pacientes portadores da forma clínica hepatoesplênica apresentam uma deficiência em montar uma resposta imune efetora do Tipo 2, com um aumento de freqüência de linfócitos T CXCR3+, após estimulação *in vitro* com SEA. Em conjunto, esses resultados sugerem que os pacientes portadores da infecção crônica hepatoesplênica apresentam, predominantemente, uma resposta imune pró-inflamatória, estando essa resposta associada a um quadro clínico mais grave da doença. Estudos adicionais demonstraram ainda que, em pacientes assintomáticos, a síntese de IL-10 está positivamente correlacionada à expressão de CXCR4 e inversamente correlacionada com a expressão de CXCR3, sugerindo que a IL-10 seria um fator importante no controle do padrão de migração celular durante a infecção crônica intestinal. Recentemente, a expressão de receptores de quimiocinas em células do granuloma esquistossomótico pulmonar murino foi investigada. Os resultados mostraram que os receptores CCR2 e CCR3 são importantes na formação do granuloma pulmonar em camundongos infectados por *S. mansoni* e a sua expressão é regulada por IL-4 e IL-13 (Warmington et al., 1999; Chiu & Chensue, 2002). Esses trabalhos demonstraram que os receptores de quimiocinas são capazes de determinar o(s) tipo(s) celular(es) que irá(ão) migrar para o foco inflamatório e esse processo é influenciado pelo ambiente de citocinas formado que, por sua vez, também influencia a expressão dos receptores.

A RESPOSTA IMUNE COMPARTIMENTALIZADA NA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI HUMANA: O BAÇO E O FÍGADO DURANTE A FORMA HEPATOESPLÊNICA DESCOMPENSADA

O estudo de processos infecciosos humanos apresenta limitações éticas de investigação, tendo em vista as restrições para o acesso ao material biológico disponível para análise. Entretanto, o estudo da resposta imune compartimentalizada apresenta-se como uma abordagem que permite investigar de uma forma mais ampla os eventos imunológicos que ocorrem em associação a um determinado processo infeccioso. Hoje ainda são escassos os estudos que avaliam aspectos imunológicos em diferentes compartimentos durante a infecção humana por *S. mansoni*. A prática da esplenectomia corretiva como uma alternativa de melhorar o quando clínico dos pacientes portadores de esquistossomose hepatoesplênica, associada à videolaparoscopia aplicada na investigação de alterações hepáticas, trouxeram a oportunidade de investigar os dois órgãos mais acometidos pela infecção.

Nesse contexto, o baço, o maior órgão linfóide interposto entre a circulação sistêmica e a portal, apresenta-se como um importante sítio de resposta imune a antígenos circulantes, sendo um órgão onde ocorre a proliferação de linfócitos e a maturação de monócitos (Tischendorf, 1985). Estudos pioneiros avaliando a celularidade do baço de pacientes portadores da forma clínica hepatoesplênica da esquistossomose foram desenvolvidos por Garcia et al. (1986). Estes autores demonstraram que células T e B perfaziam, em média, 55% e 37% dos esplenócitos totais, respectivamente. A análise de duas subpopulações celulares de esplenócitos, CD4+ e CD8+, revelou uma equivalência. Estudos morfológicos de amostras de baço obtidas de pacientes com infecção crônica hepatoesplênica mostraram que existe uma fibrose difusa da polpa vermelha, ausência de centros germinativos na polpa branca e aumento da espessura da cápsula esplênica (Bogliolo, 1959). Já estudos desenvolvidos por Magalhães Filho & Coutinho

(1960) demonstraram que o baço apresenta um quadro de fibrocongestão, caracterizado por hiperplasia do compartimento linfóide, com redução dos folículos e hipercelularidade da polpa vermelha. Avaliações recentes revelaram que o espessamento dos cordões esplênicos contribui para a gênese da esplenomegalia esquistossomática. Há um aumento da matriz extracelular em conseqüência de desdobramento de material rico em colágeno tipo IV. Além disso, dados morfométricos demonstram que durante a infecção crônica hepatoesplênica grave há uma grande variabilidade nos aspectos do compartimento linfóide. Adicionalmente, um grau variado de hiperplasia e atrofia da polpa branca foi observado em amostras de baço obtidas de pacientes hepatoesplênicos (Freitas & Barbosa, 1999). Estudo fenotípico detalhado de esplenócitos humanos foi desenvolvido por Martins-Filho, Mello & Corrêa-Oliveira (1998). Nesse estudo foram analisadas biópsias esplênicas de indivíduos saudáveis e indivíduos portadores da forma hepatoesplênica da esquistossomose mansoni. A análise comparativa dos esplenócitos de indivíduos saudáveis e infectados por *S. mansoni* não demonstrou diferenças significativas no percentual de linfócitos T e suas subpopulações, linfócitos CD4+ e CD8+, assim como na população de linfócitos B. Também não foram encontradas diferenças significativas na expressão da molécula co-estimuladora CD28. No entanto, um maior percentual de células NK e de linfócitos T CD4+ e CD8+ apresentando o marcador de ativação tardia HLA-DR foi encontrado. Além disso, os esplenócitos dos pacientes portadores da forma hepatoesplênica da esquistossomose mansoni também apresentaram um percentual maior de linfócitos B1. A análise comparativa de parâmetros imunológicos do baço e sangue periférico revelou que em ambos os compartimentos havia um aumento do percentual de linfócitos T e suas subpopulações CD4+ e CD8+ para o marcador de ativação celular HLA-DR, em comparação com os indivíduos do grupo-controle, sugerindo que o baço é um importante sítio de ativação celular durante a infecção esquistossomótica humana. Por outro lado, a avaliação do percentual de células CD28+ em linfócitos T CD4+ e CD8+ demonstrou que havia uma diminuição apenas no percentual de linfócitos T positivos para CD28 na subpopulação de linfócitos CD8+, em comparação aos indivíduos do grupo-controle. Essa diminuição foi observada apenas no sangue periférico, não sendo encontrada no baço dos pacientes portadores da forma clínica hepatoesplênica descompensada, sugerindo que a perda de mecanismos co-estimuladores é um fenômeno que ocorre fora do baço na esquistossomose mansoni grave humana.

Até recentemente, do ponto de vista da compartimentalização da resposta imune, o fígado era considerado um órgão relativamente inerte apresentando-se num estado normal não inflamado e essencialmente pouco diferente de outros órgãos sólidos que possuíam um componente imunológico. Entretanto, essa visão vem sendo modificada nos últimos anos, pois pesquisadores identificaram propriedades imunológicas distintas para o fígado (Crispe & Mehal, 1996; O'Farrelly & Crispe, 1999). Esse órgão possui algumas características estruturais que conferem a ele uma função imunológica importante: recebe 25% do fluxo sanguíneo cardíaco e é a maior fonte de linfa do corpo, contribuindo com 25%-50% do fluxo do ducto torácico. A maioria do suprimento sanguíneo hepático é fornecida pela veia porta, que carreia nutrientes derivados da dieta, toxinas, antígenos, bem como substâncias derivadas do baço. A localização do fígado permite que moléculas absorvidas pelo intestino transitem até aquele órgão, onde serão metabolizadas ou degradadas, caso sejam substâncias tóxicas. Tais características fazem com que o fígado seja continuamente exposto a antígenos e células do sistema imune, em particular os linfócitos (Bertolino et al., 2002). Algumas informações sugerem, ainda, que o fígado possa ser um órgão capaz de estabelecer interações particulares bem específicas com os linfócitos: cerca de 50% dos

linfócitos intra-hepáticos, tanto em camundongos, como em humanos, expressam marcadores fenotípicos de células NKT (MacDonald, 1995; Doherty et al., 1999); o fígado é um sítio preferencial de apoptose de células T, principalmente linfócitos T CD8+ (Huang et al., 1994; Qian et al., 1997); é também um sítio de infecções virais persistentes (Koziel & Walker, 1997; Tsai & Huang, 1997; Cerny & Chisari, 1994) e possui a capacidade de induzir tolerância imunológica (Triger, Cynamon & Wright, 1973; Yang et al., 1994). Embora não se saiba ao certo se todas essas propriedades imunológicas características do referido órgão tenham uma base comum, acredita-se que a permeabilidade hepática a linfócitos T e a capacidade do fígado de potencialmente funcionar como sítio primário de ativação de linfócitos T possam ser mecanismos que contribuam para o estabelecimento dessas características imunológicas específicas. Durante o processo de infecção por *S. mansoni,* o acometimento hepático leva ao desenvolvimento das formas clínicas hepatointestinal ou hepatoesplênica. No transcorrer do processo, o fígado primeiramente aumenta de tamanho e, posteriormente, adquire uma textura firme e apresenta uma superfície finamente granular, mas não nodular, como na cirrose hepática (El Garem, 1998). A doença é essencialmente mesenquimal e não parenquimatosa, com a arquitetura do lóbulo hepático bem preservada. Não há evidências de necrose, exceto em sítios focais do granuloma ou em caso de regeneração. O trato portal aparece com bandas fibrosas espessas que se assemelham à borda de um cachimbo, sendo denominada, inicialmente, de fibrose do tipo *pipesteam* e, posteriormente, recebendo a denominação de fibrose de Symmers (Symmers, 1904). Devido ao comprometimento da circulação portal, ocorre arteriolização, por meio da ramificação da artéria hepática, levando à formação de espaços vasculares denominados de angiomatóides (Elwi, 1976). A compensação do fluxo sanguíneo é feita pela artéria hepática que mantém a perfusão do órgão e, com isso, suas funções serão alteradas apenas mais tardiamente. O grau máximo de fibrose pode ser observado no espaço porta, contudo, também está presente ao redor dos lóbulos hepáticos e entre os hepatócitos. Nos casos mais graves da esquistossomose pode haver o desenvolvimento de falha hepática progressiva com sintomatologia similar aos estágios terminais de cirrose hepática, tais como encefalopatia, hipertermia, oligúria, ascite, icterícia, palidez, dentre outros (El Garem, 1998).

Na gênese da patologia associada à esquistossomose mansoni, a formação do granuloma hepático e a fibrose hepática periportal apresentam-se como principais componentes da morbidade. Como mencionado anteriormente, a participação de linfócitos T CD4+ na reatividade granulomatosa durante a esquistossomose mansoni humana também foi sugerida por Doughty et al. (1987), por intermédio de estudos da reatividade granulomatosa *in vitro*. Sabe-se que os linfócitos T CD4+ estão envolvidos no processo de fibrogênese associado à esquistossomose mansoni, como demonstrado em estudos desenvolvidos em modelo murino (Prakash, Postlethwaite & Wyler, 1991; Prakash & Wyler, 1992). Pesquisadores mostraram que linfócitos T CD4+, obtidos de granulomas hepáticos, são fonte de fibrosina, uma linfocina com atividade fibrogênica, importante no desenvolvimento de fibrose hepática.

Estudos avaliando a celularidade do infiltrado hepático de pacientes portadores da forma hepatoesplênica da esquistossomose foram desenvolvidos por Raso & Neves (1965) e Zhang et al. (2000). Os autores evidenciaram que o infiltrado inflamatório hepático de pacientes portadores da forma hepatoesplênica era linfocítico com predomínio de linfócitos T CD8+, sugerindo também a participação dessa população celular não só na resposta granulomatosa hepática, como também na estabilização da doença.

Por outro lado, em estudo recente, Teixeira-Carvalho (2004) avaliou a celularidade do infiltrado inflamatório hepático dos pacientes portadores da forma hepatoesplênica descompensada, observando a

presença de uma resposta inflamatória mononuclear de natureza não granulomatosa, constituída preferencialmente por linfócitos T, com um maior número de linfócitos CD4+ e participação secundária de linfócitos CD8+, presentes em menor freqüência. A princípio, essa contradição observada em relação aos dados encontrados por Raso & Neves (1965) e Zhang et al. (2000) poderia estar associada com a possibilidade das amostras hepáticas terem sido obtidas de pacientes portadores de co-infecção esquistossomose/hepatite viral, uma vez que esses autores não relatam a realização prévia de investigação sorológica para hepatites virais, empregada como critério de exclusão no estudo de Teixeira-Carvalho (2004). Sabidamente, a co-infecção por vírus poderia alterar a celularidade hepática, favorecendo o recrutamento de linfócitos T CD8+. Estudo comparativo desenvolvido por Rocha (1998), avaliando o infiltrado inflamatório hepático em pacientes portadores de esquistossomose, com sorologia negativa para hepatites B ou C em relação àqueles com sorologia positiva, reforça essa hipótese. Os dados obtidos mostraram um predomínio de linfócitos CD8+ naqueles pacientes com sorologia positiva para hepatite viral e a presença tanto de linfócitos CD4+ quanto de CD8+ naqueles pacientes com sorologia negativa para hepatite, corroborando os achados de Teixeira-Carvalho (2004), que mostravam ainda que os infiltrados inflamatórios hepáticos continham também macrófagos, linfócitos B e células NK.

Todos esses elementos celulares provavelmente têm importância nos fenômenos inflamatórios desencadeados no fígado durante a infecção esquistossomótica hepatoesplênica descompensada.

PERSPECTIVAS

Apesar da existência de estudos que avaliam aspectos específicos da resposta imune na esquistossomose mansoni humana, ainda não está claro quais são os mecanismos imunológicos envolvidos no estabelecimento das várias formas clínicas da doença, inclusive quais seriam os eventos que poderiam influenciar o desenvolvimento de um quadro de fibrose moderada ou acentuada durante a evolução da forma hepatoesplênica da doença. Dessa forma, torna-se de grande relevância o estudo mais detalhado da resposta imune em pacientes apresentando a forma hepatoesplênica da esquistossomose, correlacionando o perfil de citocinas, quimiocinas e seus receptores e o padrão de migração celular durante a infecção humana, estudando simultaneamente, do ponto de vista fenotípico e histológico, os órgãos mais acometidos durante a doença, o fígado e baço. Assim, poder-se-á compreender melhor os mecanismos imunopatológicos envolvidos no desencadeamento da esquistossomose humana, sua progressão e manutenção, visando ao controle da patologia em indivíduos infectados.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, Z. A. & WARREN, K. S. Mild prolonged schistosomiasis in mice: alterations in host response with time and the development of portal fibrosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 58: 53-57, 1964.

ARAÚJO, M. I. et al. Evidence of a T helper type 2 activation in human schistosomiasis. *European Journal of Immunology*, 26: 1.399-1.403, 1996.

BAHIA-OLIVEIRA, L. M. G. et al. Differential cellular reactivity to adult worm antigens of patients with different clinical forms of schistosomiasis mansoni. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 86: 57-61, 1992.

BASSILY, S. et al. Low-dose niridazole in the treatment of *Schistosoma mansoni*. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 73(3): 295-306, 1979.

BERTOLINO, P. et al. Role of primary intrahepatic T-cell activation in the liver tolerance effect. *Immunology and Cell Biology*, 80(1): 84-92, 2002.

BEVILLAQUA, M. P. Endothelial leucocyte adhesion molecules. *Annual Review of Immunology*, 11: 767-804, 1993.

BOGLIOLO, L. Patologia. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, XI(2-3): 359-423, 1959.

BONECCHI, R. et al. Differential expression of chemokine receptors and chemotactic responsiveness of type 1 T helper cells (Th1s) and Th2s. *Journal of Experimental Medicine*, 187: 129-134, 1998.

BONNEY, R. J. et al. Immune complexes cause the synthesis and release of prostaglandins and the release of lysosomal and hydrolase from macrophages. *Federation Proceedings*, 37: 1.353-1.358, 1978.

BOROS, D. L. The role of cytokines in the formation of the schistosome egg granuloma. *Immunobiology*, 191(4-5): 441-450, 1994.

BRITO, C. F. et al. CD4+ T cells of schistosomiasis naturally resistant individuals living in an endemic area produce interferon-gamma and tumour necrosis factor-alpha in response to the recombinant 14 KDa *Schistosoma mansoni* fatty acid-binding protein. *Scandinavian Journal of Immunology*, 51: 595-601, 2000.

CERNY, A. & CHISARI, F.V. Immunological aspects of HCV infection. *Intervirology*, 37(2): 119-125, 1994.

CHENSUE, S. W. et al. Evolving T cell responses in murine schistosomiasis: Th2 cells mediate secondary granulomatous hypersensitivity and are regulated by CD8+ T cells *in vivo*. *Journal of Immunology*, 151: 1.391-1.400, 1993.

CHIU, B. & CHENSUE, S. W. Chemokine responses in schistosomal antigen-elicited granuloma formation. *Parasite Immunology*, 24: 285-294, 2002.

COLLEY, D. G. Immune responses to a soluble schistosomal egg antigen preparation during chronic primary infection with *Schistosoma mansoni*. *Journal of Immunology*, 115: 150-156, 1975.

COLLEY, D. G. et al. Immune responses during human schistosomiasis mansoni. III. Regulatory effect of patient sera on human lymphocytes blastogenic responses to schistosomal antigen preparations. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 26: 917-925, 1977.

COLLEY, D. G. et al. Immune response during human schistosomiasis. XII. Differential responsiveness in patients with hepatosplenic disease. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 35: 793-802, 1986.

CONTIGLI, C. et al. Phenotype and cytokine profile of *Schistosoma mansoni* specific T cell lines and clones derived from schistosomiasis patients with distinct clinical forms. *Clinical Immunology*, 91(3): 338-344, 1999.

CORRÊA-OLIVEIRA, R. et al. Cytokines is a determinant of the susceptibility and resistance in human schistosomiasis mansoni. *Brazilian Medical and Biological Research*, 31(1): 127-131, 1998.

CRISPE, I. N. & MEHAL, W. Z. Strange brew: T cells in the liver. *Immunology Today*, 17(11): 522-525, 1996.

CZAJA, M. J.; GIAMBRAN, M. A. & ZERN, M. A. Transforming growth factor-B stimulates collagen synthesis *in vitro* and is elevated in a vivo model of hepatic fibrosis. *Hepatology*, 7: 1.028-1.045, 1987.

DE JESUS, A. M. et al. Correlation between cell-mediated immunity and degree of infection in subjects living in an endemic area of schistosomiasis. *European Journal of Immunology*, 23: 152-158, 1993.

DOHERTY, D. G. et al. The human liver contains multiple populations of NK cells, T cells, and CD3+CD56+ natural T cells with distinct cytotoxic activities and Th1, Th2, and Th0 cytokine secretion patterns. *Journal of Immunology*, 163(4): 2.314-2.321, 1999.

DOUGHTY, B. L. & PHILIPS, S. M. Delayed hypersensitivity granuloma formation around *Schistosoma mansoni* eggs *in vitro*. II. Regulatory T cell subsets. *Journal of Immunology*, 133: 933-940, 1982.

DOUGHTY, B. L. et al. Granulomatous hypersensitivity to *Schistosoma mansoni* egg antigens in human schistosomiasis. I. Granuloma formation and modulation around polyacrylamide antigen-conjugated beads. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82, supl. 4: 47-54, 1987.

DOUGHTY, B. L. et al. Anti-idiotypic T cells in human Schistosomiasis. *Immunology Investigation*, 18: 373-388, 1989.

DUSTIN, M. L. et al. Induction by IL-1 and interferon-gamma, tissue distribution, biochemistry and function of a natural adhesion molecule (ICAM-I). *Journal of Immunology*, 137: 245-254, 1986.

EL GAREM, A. A. Schistosomiasis. *Digestion*, 59: 589-605, 1998.

ELWI, A. M. *Pathology of Schistosomiasis in Compiled Review on Bilharziasis*. Cairo: National Documentation Center (NIDC) Egyptian Academy of Science and Technology, 1976.

FALCÃO, P. L. et al. Human schistosomiasis mansoni: IL-10 modulates the *in vitro* granuloma formation. *Parasite Immunology*, 20(10): 447-454, 1998.

FLORES-VILLANUEVA, P. O. et al. Role of IL-10 on antigen-presenting cell function for schistosomal egg-specific monoclonal T helper cell responses *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Immunology*, 151: 3.192-3.198, 1993.

FREITAS, C. R. L. & BARBOSA, A. A. Pathology of the spleen in hepatosplenic schistosomiasis. Morphometric evaluation and extracellular matrix changes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94(6): 815-822, 1999.

GARCIA, A. A. et al. Immune response during human schistosomiasis mansoni: XIII- Immunological status of spleen cells from hospital patients with hepatosplenic disease. *Scandinavian Journal of Immunology*, 24: 413-420, 1986.

GOES, A. M. et al. Granulomatous hypersensitivity to *Schistosoma mansoni* egg antigens in human schistosomiasis. IV. A role for prostaglandin-induced inhibition of *in vitro* granuloma formation. *Parasite Immunology*, 16(1): 11-18, 1994.

HUANG, L. et al. The liver eliminates T cells undergoing antigen-triggered apoptosis *in vivo*. *Immunity*, 1(9): 741-749, 1994.

JANKOVIC, D. et al. CD4+ T cell-mediated granulomatous pathology in schistosomiasis is downregulated by a B cell-dependent mechanism requiring Fc receptor signalling. *Journal of Experimental Medicine*, 87: 619-629, 1998.

KOZIEL, M. J. & WALKER, B. D. Characteristics of the intrahepatic cytotoxic T lymphocyte response in chronic hepatitis C virus infection. *Springer Seminars in Immunopathology*, 19(1): 69-83, 1997.

LIMA, M. S. et al. Immune responses during human schistosomiasis mansoni. *Journal of Clinical Investigation*, 78: 983-988, 1986.

LUKACS, N. W. et al. Inflammatory granuloma formation is mediated by TNF-alpha inducible intercellular adhesion molecule-I. *Journal of Immunology*, 152: 5.883-5.889, 1994.

MACDONALD, H. R. NK1.1+ T cell receptor-alpha/beta+ cells: new clues to their origin, specificity, and function. *Journal of Experimental Medicine*, 182(3): 633-638, 1995.

MAGALHÃES FILHO, A. & COUTINHO, A. B. Lesões esplênicas iniciais na Esquistossomose mansônica humana. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 2: 251-259, 1960.

MALAQUIAS, L. C. C. et al. Cytokine regulation of human immune response to *Schistosoma mansoni*: analysis of the role of IL-4, IL-5 and IL-10 on peripheral blood mononuclear cell responses. *Scandinavian Journal of Immunology*, 46(4): 393-398, 1997.

MARTINS FILHO, O. A.; MELLO, J. R. & CORRÊA-OLIVEIRA, R. The spleen is an important site of T cell activation during human hepatosplenic schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93, supl. 1: 159-164, 1998.

MARTINS-FILHO, O. A. et al. Flow cytometric study of blood leucocytes in clinical forms of human schistosomiasis. *Scandinavian Journal of Immunology*, 46(3): 304-311, 1997.

MARTINS-FILHO, O. A. et al. Clinical forms of human *Schistosoma mansoni* infection are associated with differential activation of T-cell-subsets and costimulatory molecules. *Digestive Diseases and Sciencies*, 44(3): 570-577, 1999.

MATHEW, R. & BOROS, D. L. Anti-L3T4 antibody treatment suppresses hepatic granuloma formation and abrogates antigen induced interleukin-2 production in *Schistosoma mansoni* infection. *Infection and Immunity*, 54: 820-826, 1986.

MONTENEGRO, S. M. et al. Cytokine production in acute versus chronic human schistosomiasis mansoni: the cross-regulatory role of interferon-gamma and interleukin-10 in the responses of peripheral blood mononuclear cells and splenocytes to parasite antigens. *Journal of Infectious Disease*, 179(6): 1.502-1.514, 1999.

MOSER, B. et al. Chemokines: multiple levels of leukocyte migration control. *Trends in Immunology*, 25(2): 75-84, 2004.

MURDOCH, C. C. R. & FINN, A. Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases. *Blood*, 95(10): 3.032-3.043, 2000.

MURPHY, P. M. The molecular biology of leukocyte chemoattractant receptors. *Annual Review of Immunology*, 12: 593-633, 1994.

MWATHA, J. K. et al. High levels of TNF, soluble TNF receptors, soluble ICAM-I, and INF-gamma, but low levels of IL-5, are associated with hepatosplenic disease in human schistosomiasis mansoni. *Journal of Immunology*, 160: 1.992-1.999, 1998.

O'FARRELLY, C. & CRISPE, I. N. Prometheus through the looking glass: reflections on the hepatic immune system. *Immunology Today*, 20(9): 394-398, 1999.

OTTESEN, E. A. Modulation of the host response in human schistosomiasis. I. Adherent suppressor cells that inhibit lymphocyte proliferation responses to parasite antigens. *Journal of Immunology*, 123: 1.639-1.644, 1979.

PARRA, J. C. et al. Granulomatous hypersensitivity to *S. mansoni* eggs antigens in human schistosomiasis.II *In vitro* granuloma modulation induced by polyclonal idiotypic antibodies. *Journal of Immunology*, 147: 3.949-3.954, 1991.

PEARCE, E. J. & MACDONALD, A. S. The immunobiology of schistosomiasis. *Nature Reviews*, 2: 499-511, 2002.

PERRIN, P. J. & PHILIPS, S. M. The molecular basis of granuloma formation in Schistosomiasis. III. *In vivo* effects of T-cell derived suppressor effector our factor and IL-2 on granuloma formation. *Journal of Immunology*, 143: 649-655, 1989.

PRAKASH, S. & WYLER, D. J. Fibroblast stimulation in Schistosomiasis. XII: Identification of CD4+ lymphocytes within schistosomal egg granulomas as a source of an apparently novel fibroblast growth factor. *Journal of Immunology*, 148: 3.583-3.587, 1992.

PRAKASH, S.; POSTLETHWAITE, A. E. & WYLER, D. J. Alterations in influence of granuloma-derived cytokines on fibrogenesis in the course of murine *Schistosoma mansoni* infection. *Hepatology*, 13(5): 970-976, 1991.

QIAN, S. et al. Apoptosis of graft-infiltrating cytotoxic T cells: a mechanism underlying 'split tolerance' in mouse liver transplantation. *Transplant Proceedings*, 29(1-2): 1.168-1.169, 1997.

RASO, P. Esquistossomose mansônica. In: BOGLIOLO, L. (Ed.) *Patologia*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994.

RASO, P. & NEVES, J. Contribuição ao conhecimento do quadro anatômico do fígado na forma toxêmica da esquistossomose mansônica através de punções-biópsias. *Annais da Faculdade de Medicina da UFMG*, 22: 147-165, 1965.

REZENDE, A. S.; LAMBERTUCCI, J. R. & GOES, A. M. Role of immune complexes from patients with different clinical forms of schistosomiasis in the modulation of *in vitro* granuloma research. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92: 683-687, 1997.

REZENDE, S. A. et al. IL-10 plays a role in the modulation of human granulomatous hypersensitivity against *Schistosoma mansoni* eggs induced by immune complexes. *Scandinavian Journal of Immunology*, 46: 96-102, 1997.

RITTER, D. M. & MCKERROW, J. H. Intercellular adhesion molecule 1 is the major adhesion molecule expressed during schistosome granuloma formation. *Infection and Immunity*, 64(11): 4.706-4.713, 1996.

ROCHA, D. B. *Interação da Esquistossomose Hepatoesplênica com a Hepatite Viral: aspectos anátomo-patológicos e da resposta imune*, 1998. Tese de Doutorado, Rio de Janeiro: Programa de Pós-graduação em Patologia, Universidade Federal Fluminense.

SALLUSTO, F.; LANZAVECCHIA, A. & MACKAY, C. R. Chemokines and chemokine receptors in T-cell priming and Th1/Th2 mediated responses. *Immunology Today*, 12: 568-574, 1998.

SALLUSTO, F. et al. Flexible programs of chemokine receptor expression on human polarized T helper 1 and 2 lymphocytes. *Journal of Experimental Medicine*, 187: 875-883, 1998.

SHER, A. et al. Interleukin 5 is required for the blood and tissue eosinophilia but not granuloma formation induced by infection with *Schistosoma mansoni*. *Proceedings National Academic Sciences of the United States of America*, 87: 61-65, 1990.

STADECKER, M. J. The role of T-cell anergy in the immunomodulation of schistosomiasis. *Parasitology Today*, 8: 199-204, 1992.

STADECKER, M. J. & FLORES-VILLANUEVA, P. O. The role of T-cell anergy in the immunomodulation of schistosomiasis. *Parasitology Today*, 15: 571-574, 1992.

STADECKER, M. J. & FLORES-VILLANUEVA, P. O. Accessory cell signals regulate Th-cell responses: from basic immunology to a model of helminthic disease. *Immunology Today*, 15(12): 571-574, 1994.

SYMMERS, W. S. C. Note on a new form of liver cirrhosis due to the presence of the ova of *Bilharzia haematobium*. *Pathology and Bacteriology*, 9: 237-239, 1904.

TEIXEIRA-CARVALHO, T. *Estudo de Aspectos Imunocitoquímicos Associados às Formas Clínicas da Esquistossomose Mansônica Humana*, 2004. Tese de Doutorado, Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.

TISCHENDORF, F. On the evolution of the spleen. *Experientia*, 41: 145-152, 1985.

TRIGER, D. R.; CYNAMON, M. H. & WRIGHT, R. Studies on hepatic uptake of antigen. I. Comparison of inferior vein cava and portal vein route of immunization. *Immunology*, 25: 941-950, 1973.

TSAI, S. L. & HUANG, S. N. T cell mechanisms in the immunopathogenesis of viral hepatitis B and C. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 12(9-10): 227-235, 1997.

VIANA, I. R. et al. Interferon-gama production by peripheral blood mononuclear cells from resident of an endemic area for *Schistosoma mansoni*. *The Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 88: 466-470, 1994.

WARMINGTON, K. S. et al. Effect of C-C chemokine receptor 2 (CCR2) knockout on type-2 (schistosomal antigen-elicited) pulmonary granuloma formation: analysis of cellular recruitment and cytokine responses. *American Journal of Pathology*, 154(5): 1.407-1.416, 1999.

WARREN, K. S. The immunopathology of schistosomiasis: a multidisciplinary approach. *The Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 66: 417-434, 1972.

WARREN, K. S.; DOMINGO, E. O. & COWAN, R. B. T. Granuloma formation around schistosome eggs as a manifestation of delayed hypersensitivity. *American Journal of Pathology*, 57: 735-756, 1976.

WEINSTOCK, J. V. The pathogenesis of granulomatous inflammation and organ injury in schistosomiasis: interactions between the *Schistosoma* ova and the host. *Immunology Investigation*, 21: 455-475, 1992.

WEINSTOCK, J. V. & BLUM, A. M. Modulation of granulomatous inflammation in murine *Schistosomiasis mansoni* by enteric exposure to schistosome ova: *in vitro* characterization of a regulatory mechanism within the granuloma. *Cellular Immunology*, 108: 452-459, 1987.

WYLER, D. J. Why does liver fibrosis occur in Schistosomiasis? *Parasitology Today*, 8: 277-279, 1992.

WYNN, T. A. & CHEEVER, A. W. Cytokine regulation of granuloma formation in schistosomiasis. *Current Opinion in Immunology*, 7: 505-511, 1995.

WYNN, T. A. et al. Endogenous interleukin 12 (IL-12) regulate granuloma formation induced by eggs of *Schistosoma mansoni* and exogenous IL-12 both inhibits and prophylactically immunizes against egg pathology. *Journal of Experimental Medicine*, 179: 1.551-1.561, 1994.

YAMASHITA, T. & BOROS, D. L. IL-4 influences IL-2 production and granulomatous inflammation in murine *Schistosoma mansoni*. *Journal of Immunology*, 149: 3.659-3.665, 1992.

YANG, R. et al. Intestinal venous drainage through the liver is a prerequisite for oral tolerance induction. *Journal of Pediatric Surgery*, 29, 1.145-1.148, 1994.

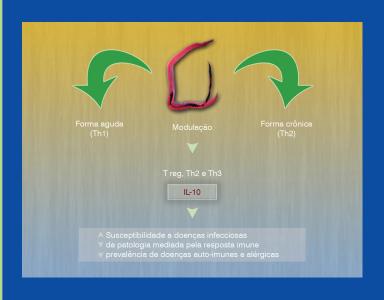
ZHANG, S. et al. Observation of T lymphocyte subsets in the liver of patients with advanced schistosomiasis and advanced schistosomiasis accompanied with hepatitis B. *Journal of Tongji Medicine University*, 20(2): 137-138, 2000.

ZLOTNIK, A. & YOSHIE, O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity*, 12(2): 121-127, 2000.

ZWINGENBERGER, K. et al. Release of interleukin-2 and Interferon-gamma by peripheral blood cells in human *S. mansoni* infection normalizes after chemotheraphy. *Scandinavian Journal of Immunology*, 30: 463-471, 1989.

23 A Resposta Imune no Contexto das Co-Infecções Associadas à Esquistossomose

Edgar M. Carvalho
Silvane Braga Santos
Amelia Ribeiro de Jesus

A resposta inflamatória que ocorre na forma aguda da esquistossomose é modulada negativamente pela produção de IL-10. Por isso, a forma crônica da doença é caracterizada por uma inibição da resposta imune Th1 e Th2. A IL-10 favorece a persistência de outros patógenos, no entanto, pode reduzir a resposta inflamatória nas doenças alérgicas e auto-imunes.

Sendo uma helmintíase que afeta milhões de indivíduos, principalmente em continentes onde outras doenças infecciosas são endêmicas, o impacto da associação da esquistossomose com outras doenças é assunto de grande relevância. Em todo o mundo tem ocorrido um aumento da prevalência de doenças inflamatórias crônicas, e evidências têm sido acumuladas, tanto no modelo experimental como em humanos, que a infecção por *Schistosoma mansoni* pode modificar o curso de doenças infecciosas, doenças alérgicas e doenças auto-imunes. Este efeito da infecção esquistossomótica em outras doenças deve-se à forte modulação da resposta imune que é observada na fase crônica da esquistossomose. Por outro lado, esta modulação que ocorre durante a infecção esquistossomótica é fundamental para a redução da morbidade e da mortalidade que acontece na fase aguda da doença e da morbidade da fase crônica da infecção.

A forma aguda da esquistossomose consiste num dos melhores exemplos de processo inflamatório sistêmico, caracterizado por grande produção de citocinas pró-inflamatórias como TNF-α, IL-1 e IL-6 e presença de complexos imunes circulantes (De Jesus et al., 2004), que provoca danos irreversíveis se não regulada. Na fase tardia da forma aguda, após ocorrer a oviposição, ocorre uma modulação da resposta imune caracterizada por produção de IL-10, a qual é bem documentada também na forma crônica da doença, quando há também a modulação dos granulomas e a proteção ao desenvolvimento das formas graves da doença.

A modulação da resposta imune constitui-se no principal aspecto de interesse para o entendimento das co-infecções de *S. mansoni* com outros agentes infecciosos, desde que esta supressão da resposta imunológica não ocorre somente contra antígenos de *S. mansoni*, mas também contra outros antígenos. A capacidade da esquistossomose de modular a resposta imune a outros antígenos é bem exemplificada no estudo que avaliou a influência da infecção por *S. mansoni* na resposta imune de indivíduos à vacinação pelo toxóide tetânico (Sabin et al., 1996). Nesse estudo, enquanto a resposta imune do grupo-controle não esquistossomótico, após a vacinação, era representada por uma resposta mista, com produção tanto de citocinas Th1 como IFN-γ e de citocinas Th2 como IL-4, nos indivíduos esquistossomóticos a resposta era predominantemente do tipo Th2, com pouca ou ausência de produção de IFN-γ. O referido estudo mostrou ainda que a magnitude da supressão da resposta Th1 estava associada à carga parasitária. Enquanto nos indivíduos com baixo grau de infecção esquistossomótica (menos de duzentos ovos por grama de fezes), a despeito da ausência da produção de IFN-γ após estimulação *in vitro* com o tétano toxóide, os linfócitos expressavam RNA mensageiro para IFN-γ, nos indivíduos com grau elevado de infecção (mais de quatrocentos ovos por grama de fezes), além de não haver síntese de IFN-γ, os linfócitos não expressavam RNA mensageiro para esta citocina (Sabin et al., 1996).

A modulação da resposta imune observada em pacientes com esquistossomose mansoni se relaciona principalmente com moléculas existentes no ovo de *S. mansoni*, como a Lacto-N-Fucopentose (LNFPIII) (Velupillai et al., 2000), a P24 (Zouain et al., 2002) e outras, as quais têm capacidade de induzir IL-10, citocina importante para suprimir a resposta imune, como também induzir a expansão de células T regulatórias (Pearce et al., 2004). Como a infecção por *S. mansoni*, ao diminuir a resposta imunológica, pode alterar os mecanismos de defesa contra outros agentes infecciosos, poderia se esperar que a associação da esquistossomose a outras infecções sempre tivesse como resultado algum dano para o hospedeiro. Todavia, como a patogênese das lesões teciduais que ocorrem no curso das doenças infecciosas pode estar relacionada com uma resposta imune exagerada, a exemplo de mielopatia associada à infecção pelo HTLV-1 (Jacobson, 2002) ou da leishmaniose mucosa (Carvalho et al., 1985; De Jesus et al., 1998; Bacellar et al., 2002), é possível que esta modulação da resposta imune venha a ser benéfica para o hospedeiro, em determinadas situações. Desta forma, pode-se esperar que a infecção por *S. mansoni* tanto tenha o potencial de reduzir as nossas defesas contra alguns patógenos em doenças nas quais a lesão tecidual depende de uma resposta inflamatória exacerbada, como também possa atenuar processos patológicos. Como as melhores evidências de que a modulação da resposta imune causada por *S. mansoni* tenha capacidade de beneficiar o hospedeiro têm sido mostradas em doenças inflamatórias não infecciosas, apesar de este capítulo enfatizar o impacto da infecção por *S. mansoni* na resposta imune e nas manifestações clínicas de outras doenças infecciosas, é também analisada a influência da infecção por *S. mansoni* sobre algumas doenças alérgicas e auto-imunes.

REGULAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE NA ESQUISTOSSOMOSE E REDUÇÃO DA ELIMINAÇÃO DE VÍRUS NA CO-INFECÇÃO COM *S. mansoni*

Estudos realizados tanto em modelos experimentais como em humanos têm mostrado uma grande influência da infecção por *S. mansoni,* não só para modificar a resposta imune contra os vírus, como também a patogenia das doenças virais. A resposta imune contra vírus envolve tanto a produção de anticorpos como a ativação de células T CD4+ e T CD8+. Os anticorpos protegem o hospedeiro participando da destruição de vírus, tanto nas fases extracelulares, por mecanismos de neutralização, como pela citotoxicidade mediada pelo complemento. Anticorpos também podem proporcionar a destruição de células infectadas, pelo mecanismo de citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC), em que as células NK fixam-se a anticorpos ligados à superfície das células infectadas por intermédio de seus receptores Fcγ RIII e degranulam no ponto de contato com a célula infectada, induzindo-as a sofrer apoptose. A resposta imune celular, mediada por linfócitos TCD4+ e TCD8+, participa da proteção contra os vírus principalmente nas suas fases intracelulares, seja produzindo citocinas como IFN-γ e TNF-α, que estimulam a produção de moléculas capazes de destruir os vírus, como por intermédio da citotoxicidade mediada pela célula TCD8+. O IFN-γ e o TNF-α produzidos por células TCD4+ ativam mecanismos microbicidas principalmente mediante a indução de óxido nítrico. O IFN-γ também participa da ativação de células TCD8+, as quais destroem células infectadas pelos vírus por citotoxicidade direta, além de também produzirem IFN-γ. Assim, enquanto anticorpos são importantes na proteção contra a infecção viral em indivíduos vacinados, visando impedir a entrada dos vírus em células não infectadas, na infecção natural por vírus a defesa do hospedeiro depende predominantemente da geração e ativação de células T CD8+ citotóxicas, dirigidas contra antígenos virais, que eliminam as células do hospedeiro já infectadas. A documentação recente de que a infecção por *S. mansoni* suprime a resposta mediada por células T em animais vacinados com uma vacina de DNA contra HIV (Da'Dara et al., 2006) mostra que helmintos podem interferir na resposta a uma vacina, fenômeno já previamente documentado em indivíduos com *S. mansoni* vacinados com toxóide tetânico.

Com a finalidade de avaliar se a supressão observada na produção de IFN-γ e de IL-2 no decorrer da infecção esquistossomótica alteraria a resposta de células T citotóxicas CD8+ e conseqüentemente a eliminação de vírus, camundongos Balb/c infectados por *S. mansoni* foram infectados com o vírus da vacínia expressando a proteína GP160 do vírus da imunodeficiência humana (HIV) (Actor et al., 1993). Em contraste com os animais sem esquistossomose e inoculados com o vírus da vacínia que produziram citocinas do tipo Th1, os animais com esquistossomose não produziram ou produziram quantidade mínima de IL-2 e IFN-γ após estimulação *in vitro* com a proteína GP160. Mais marcante que a diminuição na produção de citocinas Th1 foi o efeito da infecção esquistossomótica na resposta citotóxica contra fibroblastos transfectados com a proteína GP160. Células TCD8+ de camundongos co-infectados com o vírus da vacínia e *S. mansoni* não apresentaram atividade citolítica ou a atividade citolítica foi muito baixa contra os fibroblastos. Adicionalmente, esta diminuição da atividade citotóxica não foi restaurada pela presença de IL-2 exógena, nem quando se elevou a proporção entre células citotóxicas e células-alvo. Nesse estudo a infecção por *S. mansoni* também interferiu na eliminação do vírus. Enquanto camundongos não infectados por *S. mansoni* rapidamente eliminaram os vírus, nos camundongos infectados por *S. mansoni* a eliminação dos vírus nos pulmões e no baço foi retardada por dias, e no fígado por três semanas (Actor et al., 1993).

Um fenômeno semelhante ao observado com o vírus da vacínia em camundongos é documentado em pacientes co-infectados pelo vírus C da hepatite (HCV) e por *S. mansoni*. Enquanto em 73% dos indivíduos infectados pelo HIV uma resposta linfoproliferativa a antígenos virais foi documentada, em apenas 8,6% dos indivíduos co-infectados com *S. mansoni* e HCV uma resposta linfoproliferativa aos mesmos antígenos foi observada. Embora não existam estudos avaliando a função das células TCD8+ citotóxicas na infecção pelo vírus C em indivíduos co-infectados com *S. mansoni*, é sabido que a presença de células citotóxicas específicas se correlaciona com a eliminação do vírus na fase aguda da infecção. Uma análise comparativa do curso da infecção pelo vírus C em pacientes com ou sem esquistossomose mostrou o quanto a co-infecção com *S. mansoni* pode alterar o curso da infecção pelo HCV. Por exemplo, enquanto nos indivíduos não infectados por *S. mansoni* houve, após a fase aguda, uma redução da viremia, indivíduos co-infectados persistiram com carga viral elevada (Kamal et al., 2001a). Como a persistência do vírus é associada com a cronicidade da infecção, foi observado que, enquanto em cinco de 15 pacientes (33%) que só tinham HCV o estado da hepatite progrediu para hepatite crônica, em todos os 17 pacientes que apresentavam *S. mansoni* e HCV o estado da hepatite evoluiu para hepatite crônica (Kamal et al., 2001b). Outro estudo mais recente do mesmo grupo, avaliando uma coorte de pacientes infectados com vírus C, co-infectados ou não com *S. mansoni* e acompanhados por biópsias seriadas, mostrou uma maior freqüência de progressão para fibrose hepática nos indivíduos co-infectados com vírus C e *S. mansoni* em comparação com o grupo apenas infectado pelo HCV (Kamal et al., 2006).

A despeito do conhecimento de que pacientes com HIV co-infectados por agentes intracelulares, inclusive agentes virais, podem apresentar exacerbação tanto da infecção pelo HCV como da doença viral, a infecção por *S. mansoni* teve pouco impacto na infecção pelo HIV. Apesar de ter sido demonstrado que o HIV se multiplica melhor em clones de células Th2 do que em clones tipo Th1 (Maggi et al., 1994) *in vitro*, não existem evidências de que a co-infecção *S. mansoni*/HIV interfira na carga viral, nem no curso da infecção pelo HIV. Esta co-infecção também tem pouco impacto na evolução clínica da esquistossomose, não havendo diferença na fibrose hepática em pacientes com esquistossomose co-infectados com o HIV, quando comparados com aqueles infectados apenas por *S. mansoni* (Mwinzi et al., 2004). Adicionalmente, apesar da observação de eficácia reduzida do praziquantel para o tratamento da esquistossomose em camundongos imunossuprimidos (Sabah et al., 1985), o tratamento com praziquantel teve a mesma eficácia nos grupos com ou sem HIV (Karanja et al., 1998). No entanto, os pacientes co-infectados com *S. mansoni* e HIV excretam menos ovos de *S. mansoni*, a despeito de apresentarem níveis séricos de antigenemia semelhantes aos de pacientes que têm somente esquistossomose (Karanja et al., 1997), e que portadores de HIV são mais susceptíveis à reinfecção por *S. mansoni* do que pacientes que têm somente esquistossomose (Secor, Karanja & Colley, 2004).

O IMPACTO DA CO-INFECÇÃO *S. mansoni*/HTLV-1 NA RESPOSTA IMUNE E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA ESQUISTOSSOMOSE E DA MIELOPATIA ASSOCIADA AO HTLV-1

O vírus linfotrópico de células T humanas tipo 1 (HTLV-1) é um retrovírus que infecta células T, principalmente células TCD4+. Nestas células, a proteína Tax do vírus transativa diversos genes como IL-1, IL-2, IL-2R, GM-CSF e IL-15, induzindo um estado de hiperativação com proliferação espontânea e intensa

produção de citocinas pró-inflamatórias como o IFN-γ e o TNF-α (Jacobson, 2002). Cerca de 5% dos pacientes infectados pelo HTLV-1 apresentam uma doença neurológica debilitante caracterizada por uma mielopatia espástica com hiper-reflexia e parestesia de membros inferiores, que evolui para um quadro de paraparesia, denominada mielopatia associada ao HTLV-1 ou paraparesia espástica tropical (HAM/TSP) (Osame et al., 1986; Gessain et al., 1985). A resposta Th1 exacerbada observada na infecção pelo HTLV-1 e os conseqüentes efeitos inflamatórios das citocinas IFN-γ e TNF-α, a ativação de células TCD4+, TCD8+ específicos para os antígenos virais e a presença de células T auto-reativas têm sido considerados possíveis mecanismos indutores de lesão tecidual e determinantes do quadro neurológico observado na mielopatia associada ao HTLV-1/Paraparesia Espástica Tropical – HAM/TSP (Jacobson, 2002). Indivíduos com mielopatia associada ao HTLV-1 têm uma carga pró-viral maior que indivíduos portadores de HTLV-1 (Nagai et al., 1998). Células TCD4+ com elevada carga pró-viral expressam marcadores de ativação celular e moléculas de adesão, facilitando suas passagens pela barreira hematoencefálica. Posteriormente, passam também para o sistema nervoso central células TCD8+, específicas contra a proteína Tax. A produção exacerbada de citocinas por estas células ativadas, assim como pelas células TCD4+, terminam por causar dano tecidual.

No Brasil, principalmente na Bahia, existe uma alta prevalência de ambas as infecções, *S. mansoni* e HTLV-1, sendo encontrados indivíduos co-infectados com ambos os agentes. Alguns estudos avaliaram tanto os efeitos da intensa resposta tipo Th1 sobre a resposta imune a *S. mansoni* como os efeitos da infecção por *S. mansoni* na resposta imune e na evolução clínica de pacientes infectados pelo HTLV-1. O Quadro 1 mostra as alterações imunológicas no curso da co-infecção *S. mansoni*/HTLV-1, o mecanismo das alterações imunológicas e suas conseqüências.

Quadro 1 – Implicações imunológicas e clínico-epidemiológicas da co-infecção por HTLV-1 e *Schistosoma mansoni* em ambas as infecções

Alterações Imunológicas	Mecanismo	Conseqüências
Diminuição da produção de IgE contra *S. mansoni*	Modulação exercida pela alta produção de IFN-γ na infecção pelo HTLV-1	Aumento da susceptibilidade à infecção e reinfecção por *S. mansoni*
Diminuição da produção de IL-4 e IL-5 por pacientes esquistossomóticos	Modulação exercida pela alta produção de IFN-γ na infecção pelo HTLV-1	Redução de resposta Th2 com menor fibrose hepática
Falha terapêutica com drogas esquistossomóticas	Desconhecido	Persistência da infecção por *S. mansoni*
Diminuição da produção de IFN-γ por linfócitos de pacientes infectados pelo HTLV-1	Maior produção de IL-10 induzida pela co-infecção com *S. mansoni*	Diminuição da resposta Th1
Diminuição da carga pró-viral	Menor ativação celular e menor replicação viral	Menor estimulação para o sistema imune e menor agressão tecidual
Diminuição na infecção pelo HTLV-1 dos marcadores de ativação celular e de células produtoras de IFN-γ e TNF-α	Modulação exercida pela alta produção de IL-10 induzida pela co-infecção pelo *S. mansoni*	Menor lesão tecidual

Com referência à influência do HTLV-1 sobre a esquistossomose, foi documentado que a infecção pelo HTLV-1 reduz a produção de IL-4 e de IL-5 em cultura de células estimuladas com antígeno de *S. mansoni* (Porto et al., 2004). Embora não haja diferença entre os níveis séricos de IgE total dos pacientes infectados apenas por *S. mansoni* em relação aos co-infectados pelo HTLV-1, foi observada uma diminuição da produção de IgE específica contra os antígenos de *S. mansoni* no soro de pacientes co-infectados com *S. mansoni* e HTLV-1. Desde que IgE anti-*S. mansoni* participa dos mecanismos de defesa contra este helminto (Dunne et al., 1992), é possível que a diminuição desta imunoglobulina contribua para explicar que a prevalência da infecção por *S. mansoni* em indivíduos infectados pelo HTLV-1 seja quatro vezes superior à prevalência da infecção pelo helminto em indivíduos não infectados pelo HTLV-1. Interfere também na maior prevalência uma redução da eficácia terapêutica de drogas esquistossomicidas observada em pacientes co-infectados pelo HTLV-1. Enquanto nos pacientes somente com esquistossomose a eficácia do praziquantel aproxima-se de 100%, nos pacientes co-infectados a eficácia terapêutica é observada em 80% dos casos. É também importante a observação de que a co-infecção com o HTLV-1 não piora as manifestações clínicas da esquistossomose, sendo os co-infectados com HTLV-1 e *S. mansoni* na maioria das vezes assintomóticos e com grau mínimo de fibrose hepática (Porto et al., 2004). Este aspecto é importante, pelo conhecimento do papel da IL-4 e predominantemente da IL-13 na geração da fibrose hepática esquistossomótica tanto no camundongo como no homem (de Jesus et al., 2004; Wynn et al., 1993; Chiaramonte et al., 1999). Em camundongos infectados por *S. mansoni*, a administração de IL-12 e conseqüente diminuição da resposta Th2 foram associadas com redução de fibrose hepática (Wynn et al., 1994). A observação de que pacientes co-infectados com HTLV-1 e *S. mansoni* apresentam uma diminuição da resposta Th2 e também graus menos intensos de fibrose pela ultrassonografia (Porto et al., 2004) dá suporte ao papel deste tipo de resposta na imunopatologia do granuloma, que constitui a lesão principal das formas crônicas de esquistossomose.

Com relação à capacidade da infecção por *S. mansoni* em modular a resposta imune e interferir com as manifestações clínicas observadas nesta infecção viral foi observado que:

- quando comparados aos indivíduos infectados apenas pelo HTLV-1, os pacientes co-infectadas com *S. mansoni* e HTLV-1 apresentavam um menor número de células T expressando IFN-γ e TNF-α e um maior número de células expressando IL-10;
- as concentrações de IFN-γ em sobrenadante de culturas de linfócitos de pacientes co-infectados foram significantemente mais baixas do que as dos pacientes que apresentavam somente HTLV-1;
- indivíduos co-infectados com HTLV-1 e *S. mansoni* apresentavam menor carga pró-viral que indivíduos somente infectados pelo HTLV-1;
- existe uma associação inversa entre a ocorrência da mielopatia e a infecção por *S. mansoni* (Porto et al., 2005).

Estes dados mostram que a infecção por *S. mansoni* diminui as anormalidades imunológicas observadas na infecção pelo HTLV-1 e que esta mudança pode ter conseqüências na evolução clínica da doença.

CO-INFECÇÃO *S. mansoni* COM OUTROS HELMINTOS

A resposta protetora à infecção por helmintos de vida intestinal é mediada pela resposta Th2 com participação de mastócitos, eosinófilos e da imunoglobulina E. Esta imunoglobulina media a destruição de larvas tissulares desses helmintos pelo mecanismo de ADCC com a participação de eosinófilos, além de induzirem degranulação de mastócitos nas vizinhanças do intestino. Os mediadores químicos de mastócitos atraem células inflamatórias e têm vários efeitos, no intestino, que auxiliam a expulsão de vermes residentes na luz intestinal. Como em áreas endêmicas da esquistossomose outras helmintíases são também freqüentes, é importante avaliar o impacto da co-infecção. Embora até o momento não se tenha mostrado a capacidade de a infecção por *S. mansoni* modificar o curso clínico de outras helmintíases, estudos têm mostrado que indivíduos co-infectados com *S. mansoni* e *Ascaris lumbricoides* ou *S. mansoni* e *Ancylostoma duodenale* apresentam uma diminuição tanto da resposta imune celular como da resposta imune humoral a antígenos de *A. lumbricoides* e *A. duodenale* (Correa-Oliveira et al., 2002). Este fenômeno provavelmente é devido a uma somatória de efeitos modulatórios que são observados na infecção por helmintos. Por exemplo, é conhecido que glicolipídios encontrados em *S. mansoni* (LNFPIII) e glicolipídios presentes em outros helmintos, como Lacto-N-Tetrose (LNT), são fortes indutores de IL-10, citocina que tem capacidade de modular tanto a resposta tipo Th1 como a tipo Th2 (Velupillai et al., 2000). Estudos mais recentes mostram também uma maior atividade de células T regulatórias em animais infectados por *S. mansoni* (Taylor, Mohrs & Pearce, 2006). Desta forma, nos pacientes co-infectados pode haver uma maior modulação da resposta imune, resultando na diminuição da resposta celular e humoral. Faz-se necessário determinar se estas alterações têm alguma implicação na resistência à infecção por *A. lumbricoides* e *A. duodenale* e no comportamento clínico das doenças causadas por estes agentes.

Em modelos experimentais existem demonstrações de que a infecção por *S. mansoni* pode colaborar na resistência de animais a outros helmintos. Vale frisar que, diferentemente do homem, em que infecções por helmintos ocorrem naturalmente, animais podem ser infectados ao mesmo tempo ou em tempos distintos por *S. mansoni* e outros helmintos, permitindo observar o efeito que uma infecção tem sobre os mecanismos de defesa contra o outro agente infeccioso. Baseado em estudos prévios que mostravam um desvio da resposta Th2 em animais infectados por *S. mansoni* após a oviposição, e que este viés na resposta imune influenciava o padrão de citocinas a outros antígenos (Pearce et al., 1991; Kullberg et al., 1992; Garb & Stavitsky, 1984), camundongos AKR, susceptíveis à infecção por *Trichuris muris*, foram co-infectados com *S. mansoni* por via percutânea e com *T. muris* por via oral (Curry et al., 1995). Diferentemente dos animais somente infectados com *T. muris*, os co-infectados apresentaram uma forte resposta Th2, caracterizada por elevação da produção IL-4, IL-5 e IL-10. Quando a carga parasitária foi avaliada mediante a eliminação de vermes adultos nas fezes, observou-se que nos animais co-infectados com *S. mansoni* não eram mais encontrados vermes adultos nos primeiros dias da infecção, exibindo o animal um fenótipo semelhante ao de um animal resistente. Em contraste, os animais somente infectados por *T. muris* ainda persistiam eliminando vermes adultos até o dia 21 pós-infecção (Curry et al., 1995). A capacidade do *S. mansoni* de alterar a resposta imune e os mecanismos de defesa contra *T. muris* estava relacionada ao ovo do helminto, desde que resultados semelhantes foram observados com a inoculação intraperitoneal de ovos de *S. mansoni*. Adicionalmente, a habilidade de animais AKR de eliminar *T. muris* não estava relacionada com um processo inflamatório intestinal devido a uma resposta inflamatória pela

passagem de ovos de *S. mansoni* do vaso para a luz do intestino, pois o mesmo padrão de resistência foi observado quando ovos de *S. mansoni* vivos ou destruídos foram inoculados no peritônio destes animais. A inoculação de ovos lisados de *S. mansoni* induziram o mesmo padrão de resposta Th2, sem induzir um processo inflamatório intestinal, sugerindo que a indução de resistência esteja relacionada à resposta sistêmica Th2 (Curry et al., 1995). Embora no citado estudo o mecanismo pelo qual uma resposta tipo Th2 possa contribuir para a eliminação de parasitos intestinais não tenha sido avaliado, outros estudos têm mostrado que as citocinas IL-4 e IL-13 podem desempenhar um papel importante na eliminação de parasitos ou ovos de parasitos (Finkelman et al., 1997). Estas citocinas têm a capacidade tanto de aumentar o fluido intestinal como o peristaltismo, fatores que facilitam a eliminação de ovos ou de vermes de helmintos.

CO-INFECÇÃO *S. mansoni/Plasmodium*

Os protozoários são agentes intracelulares, tendo alguns deles como célula-alvo principal os macrófagos (por exemplo, diferentes espécies de *Leishmania*) ou outras células como no caso de *Plasmodium*, que invade hepatócitos e eritrócitos. Os tripanossomas têm tropismo por vários tipos celulares, incluindo cardiomiócitos, fibroblastos e macrófagos e o toxoplasma invade e se multiplica em diversas células do hospedeiro. O mecanismo de defesa contra protozoários é dependente principalmente de uma resposta imune celular mediada pelas células TCD4+ Th1, mediante a estimulação de citocinas (IFN-γ e TNF-α). Estas citocinas ativam macrófagos, neutrófilos e outras células infectadas para destruir agentes patogênicos, principalmente pela indução de produtos tóxicos como o óxido nítrico e peróxido de oxigênio. Além disso, as células Th1 e suas citocinas ativam células TCD8+, as quais têm atividade citotóxica contra as células infectadas pelos protozoários, sendo este mecanismo importante para destruir células não fagocíticas infectadas. Neste contexto, deve-se esperar que a co-infecção de protozoários com *S. mansoni*, por meio da indução de IL-10, interfira na resposta imune contra os protozoários, favorecendo a permanência e multiplicação destes agentes. Por outro lado, em um grande número de infecções causadas por protozoários, a agressão tecidual é mediada por uma resposta imune celular exagerada e não regulada sendo, portanto, possível que a infecção por *S. mansoni* possa atenuar lesões secundárias à resposta imunológica.

A proteção e eliminação de formas sanguíneas de *Plasmodium chaubadi* em camundongos resistentes são caracterizadas por uma ativação seqüencial de células TCD4+ Th1 e Th2. Com a finalidade de avaliar as conseqüências da infecção por *S. mansoni* neste modelo experimental de malária, camundongos C57BL/6 foram infectados por *S. mansoni* e, na oitava semana após a infecção, foram infectados com formas sanguíneas de *P. chaubadi*. A parasitemia nestes animais foi significantemente maior do que nos animais somente infectados com *P. chaubadi*. Em camundongos co-infectados houve uma diminuição tanto da resposta linfoproliferativa, como da produção de anticorpos contra antígenos do ovo de *S. mansoni*. Com relação à produção de citocinas, embora não tenha havido diferença estatisticamente significante na produção de IFN-γ em culturas estimuladas com antígeno de *P. chaubadi* nos dois grupos de animais, a produção de TNF-α diminuiu em camundongos duplamente infectados. Como tanto o IFN-γ como o TNF-α ativam os mecanismos de defesa contra *P. chaubadi*, estes dados sugerem que a infecção por *S. mansoni* pode, em conseqüência da diminuição da produção de TNF-α, afetar a eliminação de *P. chaubadi* em camundongos resistentes (Helmby, Kullberg & Troye-Blomberg, 1998).

No homem, as conseqüências da co-infecção entre plasmódio e *S. mansoni* ou *S. hematobium* são variáveis tanto do ponto de vista imunológico como clínico. Inicialmente, os estudos foram feitos no sentido de avaliar se a malária interferia na resposta imune humoral e celular. A determinação de IgG1 e IgG3 ao antígeno de *P. falciparum* e a antígenos de ovos de *S. mansoni* foi avaliada em indivíduos da Tunísia e Sudão que tinham sido expostos a *Plasmodium* e ao antígeno de *Schistosoma*. Uma forte correlação entre títulos elevados de IgG3 específica contra antígenos de *Plasmodium* e *Schistosoma* foi observada, sendo atribuída à reatividade cruzada entre antígenos destes dois patógenos (Naus et al., 2003). Em um outro estudo realizado no Senegal, a resposta imune ao antígeno de 28 KDa de *S. hematobium*, Glutationa-S-Transferase (Sh28 GST), e ao antígeno solúvel de *S. mansoni* foi avaliado em indivíduos com malária. As concentrações séricas de IgG3 e IgE contra Sh28 GST foram significantemente mais elevadas em crianças co-infectadas com *P. falciparum* do que em crianças infectadas somente com *S. hematobium*. Adicionalmente, concentrações séricas de IFN-γ, IL-10 e de receptor solúvel de TNF-α estavam significantemente aumentadas nas crianças co-infectadas (Remoue et al., 2000). Os dados sugerem que, neste caso, a malária desviou a resposta a *S. mansoni* para uma resposta tipo Th1 e o *S. mansoni* contribuiu para aumentar a IL-10 em pacientes co-infectados.

Dados clínicos relativos às conseqüências da co-infecção entre estes dois agentes vêm de um estudo realizado em duas áreas do Quênia, Cangundo e Cambu, que contrastam em relação à prevalência de hepatoesplenomegalia, a despeito de terem prevalência e intensidade semelhantes de infecção por *S. mansoni*. Embora a hepatoesplenomegalia seja individualmente relacionada com intensidade de infecção, em Cambu existem muito mais casos de hepatoesplenomegalia do que em Cangundo. Embora a hepatoesplenomegalia não tenha sido associada com malária clínica ou com parasitemia, níveis de anticorpos contra *P. falciparum* foram significantemente mais elevados nas crianças com hepatoesplenomegalia, sendo a co-infecção com malária, mesmo não ativa no período do estudo, presente na área de Cambu, onde existe maior freqüência de hepatoesplenomegalia. Além disso, nesse estudo, a hepatoesplenomegalia foi associada a concentrações mais elevadas de TNF-α em culturas de células mononucleares do sangue periférico (CMSP) estimuladas com antígeno de *S. mansoni*, além de concentrações elevadas de receptor solúvel de TNF-α. Esses dados sugerem que pode haver uma interação entre as infecções por plasmódio e *S. mansoni*, com indução de formas crônicas mais graves da infecção. Os mecanismos envolvidos nessa interação, contudo, precisam ser elucidados, pois podem ser devido a alterações tanto anatômicas como imunológicas induzidas pela combinação das duas infecções. A prevalência de formas hepatoesplênicas de esquistossomose mais graves na África, região de alta prevalência de malária, também sugere que uma interação entre os dois patógenos favoreça o desenvolvimento de mais lesão tecidual. Apesar de a patogênese da reação granulomatosa na esquistossomose ser mediada pela resposta Th2, com participação principalmente da IL-13, em modelos experimentais de esquistossomose tem sido também demonstrada a participação da resposta tipo Th1, principalmente do TNF-α, na indução da fibrose hepática mais grave (Stadecker et al., 2004). Assim, é possível que as citocinas Th1 induzidas pela infecção por *Plasmodium* possam ter um papel na indução das lesões hepáticas. Estudos futuros necessitam esclarecer estes pontos fundamentais para o entendimento da complexa resposta imune envolvida na indução de lesões hepáticas em ambas as infecções.

INFLUÊNCIA DA ESQUISTOSSOMOSE SOBRE AS DOENÇAS ALÉRGICAS E AUTO-IMUNES

O grande aumento da prevalência da asma e de doenças auto-imunes, como o diabetes melito tipo I, de doenças inflamatórias intestinais e de esclerose múltipla tem sido preocupante. Como existe uma associação entre uma maior ocorrência destas doenças e o elevado poder aquisitivo da população, a exemplo do que sucede no norte da Europa e nos Estados Unidos, em se comparando a sua baixa ocorrência em países subdesenvolvidos, a exemplo da África, tem sido avaliada a influência dos aspectos ambientais, como a ocorrência de doenças infecciosas e parasitárias em determinadas regiões, no desenvolvimento e na gravidade das doenças inflamatórias crônicas (Bach, 2002). Em virtude de a infecção por *S. mansoni* resultar em uma importante modulação da resposta imune, este modelo de infecção tem sido bastante estudado tanto em camundongos como no homem, no sentido de determinar se a esquistossomose tem capacidade de atenuar doenças auto-imunes ou inflamatórias, que apresentam uma resposta importante polarizada tanto para Th1 como para Th2.

Os camundongos *Non Obese Diabetic* (NOD) representam um importante modelo experimental para o estudo do diabetes melito tipo I. Após quatro meses de vida, estes animais começam a apresentar uma insulinite mediada por células T, que se segue à destruição das células beta das ilhotas de Langerhans e ao aparecimento do diabetes. Nos camundongos NOD, a infecção por *S. mansoni*, no período pós-natal, reduz significativamente o aparecimento de diabetes. Este efeito protetor mediado pelo *S. mansoni* no desenvolvimento do diabetes se relaciona com antígenos existentes no ovo do parasito, desde que, mesmo a inoculação apenas de ovos feita já na quarta semana de vida, quando células T auto-reativas já estão ativadas, impede o desenvolvimento de diabetes por estes animais (Cooke et al., 1999).

Outra doença auto-imune mediada por célula T é a encefalomielite auto-imune experimental (EAE). Esta doença é bem estudada em camundongos C57BL/6, induzida pela imunização com proteínas existentes na mielina, sendo considerada o modelo experimental da esclerose múltipla humana, doença associada com destruição de mielina. A esclerose múltipla é caracterizada por disfunção neurológica importante, que pode ser atenuada mediante o uso de drogas com efeito modulador sobre a resposta imune, como os corticosteróides, drogas citotóxicas, interferon-beta e, mais recentemente, o copaxone (Pozzilli et al., 2004; Wolinsky, 2004; Mccormack & Scott, 2004).

A infecção por *S. mansoni* em camundongos imunizados com antígenos derivados da mielina retardam o início da doença e atenuam as manifestações clínicas da EAE. Este fenômeno é dependente da modulação da resposta imune, caracterizada por diminuição da secreção de citocinas tipo Th1, como IFN-γ, diminuição da infiltração de células na medula espinhal e aumento dos níveis de TGF-β, IL-10 e da freqüência de células expressando IL-4 (La Flamme, Ruddenklau & Backstrom, 2003).

Tanto o diabetes melito como a EAE são doenças mediadas por uma resposta tipo Th1. Assim, os estudos apontam para o importante papel do *S. mansoni* de modular uma resposta tipo Th1 envolvida na gênese das duas doenças auto-imunes. Estes dados também dão suporte a observações prévias, no homem, sobre a incapacidade de pacientes esquistossomóticos de produzir ou apresentar baixa produção de IFN-γ quando imunizados com tétano toxóide (Sabin et al., 1996).

Como previamente discutido neste capítulo, na fase crônica da esquistossomose mansoni existe uma importante resposta tipo Th2, e como esta resposta modula negativamente a resposta tipo Th1, uma das possibilidades para o *S. mansoni* suprimir a resposta tipo Th1, está relacionada com uma polarização da

resposta tipo Th2 observada nesta helmintíase. Embora a possibilidade de a IL-4 interferir nesta diminuição de resposta tipo Th1 não esteja descartada, uma importante observação recente é que a infecção por *S. mansoni* está associada com uma redução também da resposta Th2 a outros antígenos que não o de *S. mansoni* (Araújo et al., 2004). Esses estudos têm sido realizados predominantemente em pacientes que têm asma e são infectados por *S. mansoni*. Nestes indivíduos a resposta a testes cutâneos de hipersensibilidade imediata com aeroalérgicos, como antígenos de *Dermatophagoides pteronyssinus*, é negativa na grande maioria dos pacientes (Araújo et al., 2000). Adicionalmente, CMSP de pacientes com asma e *S. mansoni*, quando estimulados *in vitro* com antígenos de *D. pteronyssinus*, produzem menos IL-4 e IL-5 do que pacientes que têm asma, mas não são infectados por *S. mansoni*. A modulação da resposta Th2 nestes pacientes tem uma participação importante da IL-10, demonstrada pelos seguintes dados (Araújo et al., 2004): linfócitos de pacientes com asma e *S. mansoni* produzem mais IL-10 do que os de pacientes com asma sem infecção por este helminto; em pacientes com asma e *S. mansoni* existe uma relação direta entre número de ovos nas fezes e produção de IL-10; a adição de IL-10 à cultura de linfócitos de pacientes com asma sem *S. mansoni* diminui a produção de interleucina-5 e interleucina-4.

Existem também estudos clínicos mostrando que a infecção por *S. mansoni* pode atenuar as manifestações clínicas da asma brônquica. Em um estudo avaliando a evolução clínica de pacientes com asma, infectados ou não por *S. mansoni*, foi observado que os pacientes com asma e esquistossomose, a despeito de estarem expostos igualmente a aeroalérgenos em relação à população-controle, tiveram um menor número de crises de asma, sintomas menos graves de asma e necessitaram do uso de menos medicamentos do que pacientes com asma não infectados por *S. mansoni* (Medeiros et al., 2003). Por outro lado, o tratamento da esquistossomose em pacientes com asma é acompanhado de aparecimento de sintomas mais graves de asma (Araújo et al., 2004).

PERSPECTIVAS

Em virtude de a infecção por *S. mansoni* resultar em uma modulação da resposta imune, com conseqüente atenuação da sintomatologia de diversas doenças, é importante continuar investigando os mecanismos moleculares atuantes nesse processo.

REFERÊNCIAS

ACTOR, J. K. et al. Helminth infection results in decreased virus-specific CD8+ cytotoxic T-cell and Th1 cytokine responses as well as delayed virus clearance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 90(3): 948-952, 1993.

ARAUJO, M. I. et al. Inverse association between skin response to aeroallergens and *Schistosoma mansoni* infection. *International Archives of Allergy and Immunology*, 123(2): 145-148, 2000.

ARAUJO, M. I. et al. Impaired T helper 2 response to aeroallergen in helminth-infected patients with asthma. *The Journal of Infectious Diseases*, 190(10): 1.797-1.803, 2004.

BACELLAR, O. et al. Up-regulation of Th1-type responses in mucosal leishmaniasis patients. *Infection and Immunity*, 70(12): 6.734-6.740, 2002.

BACH, J. F. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *The New England Journal of Medicine*, 347(12): 911-920, 2002.

CARVALHO, E. M. et al. Cell mediated immunity in American cutaneous and mucosal leishmaniasis. *Journal of Immunology*, 135: 4.144-4.148, 1985.

CHIARAMONTE, M. G. et al. IL-13 is a key regulatory cytokine for Th2 cell-mediated pulmonary granuloma formation and IgE responses induced by *Schistosoma mansoni* eggs. *Journal of Immunology*, 162: 920-930, 1999.

COOKE, A. et al. Infection with *Schistosoma mansoni* prevents insulin dependent diabetes mellitus in non-obese diabetic mice. *Parasite Immunology*, 21(4): 169-176, 1999.

CORREA-OLIVEIRA, R. et al. Infection with *Schistosoma mansoni* correlates with altered immune responses to Ascaris lumbricoides and hookworm. *Acta Tropica*, 83(2): 123-132, 2002.

CURRY, A. J. et al. Evidence that cytokine-mediated immune interactions induced by *Schistosoma mansoni* alter disease outcome in mice concurrently infected with Trichuris muris. *The Journal of Experimental Medicine*, 181(2): 769-774, 1995.

DA'DARA, A. A. et al. Helminth infection suppress T cell immune response to HIV-DNA-based vaccine in mice. *Vaccine*, 24(24): 5.211-5.219.

DE JESUS, A. et al. Cytokine profile and pathology in human leishmaniasis. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 31: 143-148, 1998.

DE JESUS, A. R. et al. Association of type 2 cytokines with hepatic fibrosis in human *Schistosoma mansoni* infection. *Infection and Immunity*, 72: 3.391-3.397, 2004.

DUNNE, D. W. et al. Human IgE responses to *Schistosoma mansoni* and resistance to reinfection. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87, supl. 4: 99-103, 1992.

FINKELMAN, F. D. et al. Cytokine regulation of host defense against parasitic gastrointestinal nematodes: lessons from studies with rodent models. *Annual Review of Immunology*, 15:505-533, 1997.

GARB, K. S. & STAVITSKY, A. B. Depressed in vitro and in vivo antibody response and adoptive transfer of delayed hypersensitivity to myoglobin with spleen cells of mice chronically infected with *Schistosoma japonicum* and injected with myoglobin. *Infection and Immunity*, 43(3): 1097-1099, 1984.

GESSAIN, A. et al. Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. *The Lancet*, 2: 407-410, 1985.

HELMBY, H.; KULLBERG, M. & TROYE-BLOMBERG, M. Altered immune responses in mice with concomitant *Schistosoma mansoni* and *Plasmodium chabaudi* infections. *Infection and Immunity*, 66(11): 5.167-5.174, 1998.

JACOBSON, S. Immunopathogenesis of human T cell lymphotropic virus type I-associated neurologic disease. *The Journal of Infectious Diseases*, 186, supl. 2: 187-192, 2002.

KAMAL, S. M. et al. Specific cellular immune response and cytokine patterns in patients coinfected with hepatitis C virus and *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Infectious Diseases*, 184(8): 972-982, 2001a.

KAMAL, S. M. et al. Acute hepatitis C without and with schistosomiasis: correlation with hepatitis C-specific CD4(+) T-cell and cytokine response. *Gastroenterology*, 121(3): 646-656, 2001b.

KAMAL, S. M. et al. Progression of fibrosis in hepatitis C with and without schistosomiasis: correlation with serum markers of fibrosis. *Hepatology*, 43: 771-779, 2006.

KARANJA, D. M. et al. Studies on schistosomiasis in western Kenya: I. Evidence for immune-facilitated excretion of schistosome eggs from patients with *Schistosoma mansoni* and human immunodeficiency virus coinfections. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 56: 515-521, 1997.

KARANJA, D. M. et al. Studies on schistosomiasis in western Kenya: II. Efficacy of praziquantel for treatment of schistosomiasis in persons coinfected with human immunodeficiency virus-1. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 59(2): 307-311, 1998.

KULLBERG, M. C. et al. Infection with *Schistosoma mansoni* alters Th1/Th2 cytokine responses to a non-parasite antigen. *Journal of Immunology*, 148(10): 3.264-3.270, 1992.

LA FLAMME, A. C.; RUDDENKLAU, K. & BACKSTROM, B. T.. Schistosomiasis decreases central nervous system inflammation and alters the progression of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Infection and Immunity*, 71(9): 4.996-5.004, 2003.

MAGGI, E. et al. Ability of HIV to promote a TH1 to TH0 shift and to replicate preferentially in TH2 and TH0 cells. *Science*, 265(5.169): 244-248, 1994.

MCCORMACK, P. L. & SCOTT, L. J. Interferon-beta-1b: a review of its use in relapsing-remitting and secondary progressive multiple sclerosis. *CNS Drugs*, 18(8): 521-546, 2004.

MEDEIROS JR., M. et al. *Schistosoma mansoni* infection is associated with a reduced course of asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 111(5): 947-951, 2003.

MWINZI, P. N. M. et al. Short report: evaluation of hepatic fibrosis in persons co-infected with *Schistosoma mansoni* and human immunodeficiency virus-I. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 71 (6): 783-786, 2004.

NAGAI, M. et al. Analysis of HTLV-I proviral load in 202 HAM/TSP patients and 243 asymptomatic HTLV-I carriers: high proviral load strongly predisposes to HAM/TSP. *Journal of Neurovirology*, 4(6): 586-593, 1998.

NAUS, C. W. et al. Specific antibody responses to three schistosome-related carbohydrate structures in recently exposed immigrants and established residents in an area of *Schistosoma mansoni* endemicity. *Infection and Immunity*, 71(10): 5.676-5.681, 2003.

OSAME, M. et al. HTLV-I associated myelopathy, a new clinical entity. *The Lancet*, 1(8488): 1.031-1.032, 1986.

PEARCE, E. J. et al. Downregulation of Th1 cytokine production accompanies induction of Th2 responses by a parasitic helminth, *Schistosoma mansoni*. *The Journal of experimental medicine*, 173(1): 159-166, 1991.

PEARCE, E. J. et al. Th2 response polarization during infection with the helminth parasite *Schistosoma mansoni*. *Immunological Reviews*, 201: 117-126, 2004.

PORTO, A. F. et al. HTLV-1 modifies the clinical and immunological response to schistosomiasis. *Clinical and Experimental Immunology*, 137(2): 424-429, 2004.

PORTO, A. F. et al. Helminthic infection down regulates type 1 immune responses in Human T Cell Lymphotropic Virus Type-1 (HTLV-1) carriers and is more prevalent in HTLV-1 carriers than in patients

with HTLV-1-Associated Myelopathy / Tropical Spastic Paraparesis. *The Journal of Infectious Diseases*, 191: 612-618, 2005.

POZZILLI, C. et al. Corticosteroids treatment. *Journal of the Neurological Sciences*, 223(1): 47-51, 2004.

REMOU, E. F. et al. Sex-dependent neutralizing humoral response to *Schistosoma mansoni* 28GST antigen in infected human populations. *The Journal of Infectious Diseases*, 181(5): 1.855-1.859, 2000.

SABAH, A. A. et al. *Schistosoma mansoni*: reduced efficacy of chemotherapy in infected T-cell-deprived mice. *Experimental Parasitology*, 60: 348-354, 1985.

SABIN, E. A. et al. Impairment of tetanus toxoid-specific Th1-like immune responses in humans infected with *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Infectious Diseases*, 173(1): 269-272, 1996.

SECOR, W. E.; KARANJA, D. M. & COLLEY, D. G. Interactions between schistosomiasis and human immunodeficiency virus in Western Kenya. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99: 93-95, 2004.

STADECKER, M. J. et al. The immunobiology of Th1 polarization in high-pathology schistosomiasis. *Immunological Reviews*, 201: 168-179, 2004.

TAYLOR, J. J.; MOHRS, M. & PEARCE, E. J. Regulatory T cell responses develop in parallel to Th responses and control the magnitude and phenotype of the Th effector population. *Journal of Immunology*, 176: 5.839-5.847, 2006.

VELUPILLAI, P. et al. Lewis(x)-containing oligosaccharide attenuates schistosome egg antigen-induced immune depression in human schistosomiasis. *Human Immunology*, 61: 225-232, 2000.

WOLINSKY, J. S. Glatiramer acetate for the treatment of multiple sclerosis. *Expert Opin Pharmacother*, 5(4): 875-891, 2004.

WYNN, T. A. et al. Analysis of cytokine mRNA expression during primary granuloma formation induced by eggs of *Schistosoma mansoni*. *Journal of Immunology*, 151: 1.430-1.440, 1993.

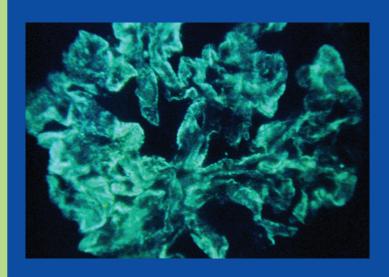
WYNN, T. A. et al. Endogenous interleukin 12 (IL-12) regulates granuloma formation induced by eggs of *Schistosoma mansoni* and exogenous IL-12 both inhibits and prophylactically immunizes against egg pathology. *The Journal of experimental medicine*, 179(5): 1.551-1.561, 1994.

ZOUAIN, C. S. et al. Human immune response in schistosomiasis: the role of P24 in the modulation of cellular reactivity to *Schistosoma mansoni* antigens. *Human Immunology*, 63: 647-656, 2002.

24 Imunologia e Imunopatologia: imunidade humoral

Teresa Cristina de Abreu Ferrari
Rodrigo Corrêa de Oliveira

Imunofluorescência indireta de glomérulo renal de paciente com glomerulopatia esquistossomótica, forma membrano-proliferativa (mesângio-capilar) difusa, evidenciando depósitos de C3 de padrão granular difuso e global, com distribuição mesangial e nas paredes dos capilares.

Foto: cortesia do professor Pérsio Godoy, Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais.

Este capítulo descreve o conhecimento atual sobre o possível papel dos anticorpos e imunocomplexos (IC) na infecção pelo *Schistosoma mansoni*. São avaliadas a relação entre anticorpos e IC e o desenvolvimento das formas clínicas da doença desde a infecção inicial e fase aguda, até o estabelecimento da fase crônica e o desenvolvimento das várias formas clínicas. Discute-se o papel dos IC na fase aguda, na formação do granuloma e na regulação da resposta granulomatosa. É apresentada a importância dos IC na indução de processos graves durante os diferentes estádios de evolução da doença até o estabelecimento da forma crônica intestinal, quando mecanismos imunorreguladores são induzidos. Aspectos como a importância dos níveis mais elevados de IC e o desvio dos antígenos do parasito provenientes do intestino para a circulação sistêmica, pelas anastomoses porto-sistêmicas que se formam em decorrência da hipertensão porta, são debatidos. É apresentado, ainda, o conhecimento relativo ao papel da quimioterapia específica sobre os níveis de IC circulantes e o que isso pode significar no processo patológico da esquistossomose, assim como o significado da redução progressiva dos IC e anticorpos após tratamento, quando alcançam a normalidade. São aqui discutidos, também, vários dos processos imunológicos que são conseqüência da formação de IC. Tais processos envolvem uma série de cascatas imunológicas onde têm papel importante o sistema do complemento, as citocinas e as interações celulares, tópicos ainda pouco explorados. Aborda-se como esses processos podem causar lesão tecidual e desenvolvimento das formas graves da doença, assim como o seu papel na indução de mecanismos reguladores.

IMUNOCOMPLEXOS

Imunocomplexos (IC) circulantes estão presentes durante todo o curso da infecção esquistossomótica, participando tanto de mecanismos imunorreguladores, como da gênese de algumas das manifestações da doença. A sua formação se inicia pouco após a penetração das cercárias, tornando-se mais intensa após o início da oviposição, quando a quantidade de antígenos liberados é maior (Lawley et al., 1979).

Diversos estudos demonstram a ação supressora dos IC circulantes, oriundos de pacientes portadores das diferentes formas clínicas da esquistossomose, sobre a reação granulomatosa e sobre a proliferação das células mononucleares do sangue em resposta a estímulos diversos (Goes et al., 1991; Rezende et al., 1993; Goes et al., 1994; Rezende et al., 1997a; Rezende, Lambertucci & Goes, 1997b; Rezende et al., 1998; Neves, Rezende & Goes, 1999). Embora alguns aspectos desses mecanismos já sejam conhecidos, eles ainda não foram completamente elucidados.

Em 1991, Goes e colaboradores demonstraram que a atividade inibitória dos IC circulantes sobre a formação do granuloma *in vitro* se deve à sua ação sobre os macrófagos, os quais são estimulados a produzir mediadores solúveis supressores. Tais autores demonstraram também que o estímulo resulta da interação dos receptores de Fc presentes na superfície dos macrófagos com a IgG dos IC. Posteriormente, as prostaglandinas E (PGE_1 e PGE_2) foram identificadas como um desses mediadores com ação supressora, tanto sobre a indução como sobre a manutenção, da reação inflamatória granulomatosa em resposta a antígenos do ovo de *S. mansoni* (Goes et al., 1994). Após o estímulo inicial dos IC circulantes, o óxido nítrico tem sido considerado um importante segundo sinal na indução da produção das PGE pelos macrófagos e monócitos dos pacientes portadores da esquistossomose (Neves, Rezende & Goes, 1999). A interleucina-10 (IL-10) é um outro provável mediador solúvel com ação supressora sobre o granuloma esquistossomótico. Foi demonstrado que IC obtidos do soro de pacientes portadores da esquistossomose mansoni determinam aumento da produção de IL-10 pelas células mononucleares do sangue periférico, com conseqüente diminuição da produção de fator de necrose tumoral-alfa (TNF-α), citocina que participa da formação do granuloma por diferentes mecanismos (Rezende et al., 1997a). Assim, pode-se sugerir a seguinte seqüência de eventos: os IC circulantes levariam ao aumento da produção de PGE que, por sua vez, estimularia a produção de IL-10 com conseqüente redução da liberação de TNF-α. Esse padrão de citocinas poderia influenciar a expressão de moléculas de adesão, o recrutamento celular e a ativação de linfócitos com inibição subseqüente da reação granulomatosa (Rezende et al., 1997a).

O estudo do padrão fenotípico das células mononucleares do sangue periférico, após tratamento com IC obtidos de pacientes portadores da esquistossomose, evidenciou aumento da proporção de linfócitos B, sugerindo que os IC estimulam a proliferação deste tipo celular, e diminuição da expressão de HLA-DR, que é uma das moléculas do MHC de classe II. Tal achado sugere que uma diminuição da apresentação de antígenos pelas células B possa também contribuir para o efeito supressor dos IC sobre a reação granulomatosa (Rezende et al., 1998).

IC contendo antígenos de *Schistosoma* foram demonstrados no soro de pacientes portadores da esquistossomose aguda e crônica; entretanto, os estudos sobre a relação entre os níveis de IC circulantes e o estádio ou gravidade da doença mostram resultados conflitantes. Bout et al. (1977) encontraram níveis mais elevados de IC circulantes nas formas mais leves da infecção. Por outro lado, Galvão-Castro et al. (1981) observaram associação entre os níveis séricos dos IC e a gravidade da doença, sendo os

valores mais elevados encontrados na forma hepatoesplênica. Observação feita também por outros investigadores (Ghanem et al., 1987). Os níveis mais elevados de IC circulantes na forma hepatoesplênica da doença têm sido atribuídos ao desvio dos antígenos do parasito provenientes do intestino para a circulação sistêmica pelas anastomoses porto-sistêmicas que se formam em decorrência da hipertensão porta. Assim, os IC deixariam de ser fagocitados pelas células de Kupffer do fígado. A fibrose hepática, mais intensa nesta forma clínica da infecção esquistossomótica, poderia também contribuir para dificultar este clareamento (Galvão-Castro et al., 1981; Ghanem et al., 1987).

IgG, IgM, IgA e IgE, bem como componentes do sistema de complemento foram demonstrados nos IC circulantes de pacientes com esquistossomose, tendo sido sugerido que o tipo de imunoglobulina componente do IC possa interferir no processo de modulação do granuloma. Todas as quatro subclasses de IgG foram demonstradas nesses IC, havendo predomínio de IgG1 nas formas crônicas mais leves e de IgG2, IgG3 e IgG4 nos casos crônicos mais graves (Jassim, Catty & Hassan, 1987). IC contendo IgM e IgE foram observados nas fases aguda e crônica. Tem sido sugerido que IC contendo IgE desempenham papel protetor, visto que estão envolvidos na aderência de macrófagos aos esquistossômulos, sendo esta etapa seguida de destruição *in vitro* daquele estádio do parasito (Bout et al., 1977; Jassim, Catty & Hassan, 1987). Níveis mais elevados de IC contendo IgA foram encontrados nas formas crônicas mais graves da infecção (Jassim, Catty & Hassan, 1987).

Os dados da literatura sugerem que logo após a quimioterapia específica ocorre aumento dos níveis de IC circulantes, provavelmente devido à grande liberação de antígenos (Ghanem et al., 1987); posteriormente, IC contendo todos os isotipos de imunoglobulinas sofrem redução progressiva até alcançarem a normalidade (Hiatt et al., 1980; Jassim, Catty & Hassan, 1987).

Os níveis séricos dos componentes do sistema de complemento não se alteram muito na esquistossomose (Galvão-Castro et al., 1981). É descrito aumento progressivo das concentrações séricas de C3d e redução, também progressiva, dos níveis de C4 à medida que a doença se torna mais grave. É provável que o aumento do C3d sérico seja devido à ativação do complemento no espaço extravascular, possivelmente nos sítios de liberação dos antígenos solúveis do ovo nos granulomas, e não à ativação intravascular do sistema de complemento pelos IC (Galvão-Castro et al., 1981).

Os IC são depositados em vários tecidos, onde podem desencadear reação inflamatória mediada pelo complemento. Tal mecanismo tem sido implicado na gênese das manifestações da fase aguda da esquistossomose, bem como da glomerulopatia.

MANIFESTAÇÕES DA FASE AGUDA

A esquistossomose aguda pode acompanhar-se de manifestações inespecíficas (mal-estar, febre, cefaléia, perda de peso, anorexia, artralgia, mialgia, lingadenomegalia e edema), respiratórias (tosse, dispnéia, dor torácica e alterações das provas de função pulmonar e da radiografia de tórax), digestivas (dor abdominal, diarréia, hepatoesplenomegalia e elevação das enzimas hepáticas), neurológicas (encefalite e mielite) e de pericardite, além de eosinofilia. Existem evidências de que citocinas pró-inflamatórias (TNF-α, IL-1 e IL-6) e IC sejam responsáveis pela sua gênese (Hiatt et al., 1980; Jesus et al., 2002). Hiatt et al. (1980) demonstraram relação direta entre os níveis de IC circulantes tanto com a gravidade das manifestações da fase aguda, quanto com a carga parasitária; e Jesus et al. (2002) observaram associação

entre níveis elevados destes complexos imunes circulantes com a presença de manifestações respiratórias e de pericardite, sugerindo que a deposição de IC nos pulmões e coração possa ser responsável pela gênese das manifestações observadas.

Os ovos, logo após o início de sua postura, liberam antígenos na circulação. Nesta fase da doença a produção de anticorpos é inferior àquela de antígenos, ocorrendo, assim, excesso moderado de antígenos, o que causa doença por IC. Como o antígeno é solúvel, o efeito é sistêmico. Algumas vezes, as manifestações da esquistossomose aguda podem se iniciar antes do início da oviposição, tendo sido sugerido que esse quadro resulta da liberação de antígenos do parasito antes de alcançar a fase adulta (Schwartz, 2002). Os sinais e sintomas da esquistossomose aguda ocorrem, em geral, três a oito semanas após a penetração das cercárias, sendo observados quase que exclusivamente em indivíduos não-imunes à infecção e que não residem em áreas endêmicas. O quadro é auto-limitado, persistindo por algumas semanas a até dois ou três meses e regredindo gradualmente quando o equilíbrio antígeno-anticorpo é alcançado (Schwartz, 2002).

Devido à natureza benigna da esquistossomose aguda, dados sobre as alterações patológicas no homem são escassos. As informações disponíveis permitem descrever uma disseminação miliar de granulomas periovulares grandes com características predominantemente necrótico-exsudativas. Um ou mais ovos embrionados são circundados por zona de necrose, onde comumente são encontrados IC (Von Lichtenberg, 1987). Externamente a essa área, observam-se exsudato celular constituído por granulócitos (neutrófilos e eosinófilos) e, mais perifericamente, por linfócitos, plasmócitos e macrófagos. Estes podem se apresentar também como células epitelióides dispostas radialmente em relação ao centro do granuloma (Raso & Bogliolo, 1970; Raso, 1994). O estudo de tecido pulmonar obtido por biópsia transbrônquica realizada em dois pacientes com envolvimento respiratório evidenciou exsudato alveolar e infiltração intersticial por eosinófilos e macrófagos sem, no entanto, ter revelado a presença de ovos (Schwartz, 2002).

O tratamento da fase aguda é feito com droga antiesquistossomótica e curso curto de corticosteróide, sendo este último particularmente indicado nas formas graves, uma vez que produz melhora significativa. Como mencionado, a esquistossomose aguda é, em geral, benigna, mas quadros fatais já foram registrados e podem ser evitados pelo uso de corticóide.

GLOMERULOPATIA

Os rins estão constantemente expostos aos IC e antígenos circulantes derivados do verme adulto e dos ovos. Como já comentado, na forma hepatoesplênica da esquistossomose mansoni, devido às anastomoses porto-sistêmicas que se desenvolvem em decorrência da hipertensão porta, esses IC e os antígenos que em condições normais são, em grande parte, depurados pelo fígado, acabam sendo desviados para a circulação sistêmica, alcançando os rins em grande quantidade. Tal fato, associado ao acometimento das células de Kupffer pela fibrose hepática, explica a maior freqüência e gravidade da glomerulopatia na forma hepatoesplênica da esquistossomose (De Brito et al., 1999; Barsoum, 2003). Soma-se a este mecanismo a grande carga parasitária com conseqüente liberação de maior quantidade de antígenos nessa forma mais grave da infecção pelo *S. mansoni*. Tais antígenos, além de serem desviados para a circulação sistêmica, podem também ultrapassar a capacidade de clareamento pelo fígado (Andrade & Rocha, 1979). Um evidente exemplo de depósitos que ocorrem na esquistossomose mansoni encontra-se representado na foto que ilustra o capítulo.

Admite-se que a lesão glomerular se inicia como uma glomerulonefrite mesângio-proliferativa secundária à deposição de IC, que contêm predominantemente antígenos do verme adulto. Tais IC se originam da circulação, sendo também formados localmente pela ligação do anticorpo ao antígeno previamente depositado na membrana basal do glomérulo (De Brito et al., 1999). Cinco tipos ou classes de lesão glomerular são descritas na glomerulopatia esquistossomótica, a saber: glomerulonefrite mesângio-proliferativa (classe I), glomerulonefrite exsudativa (classe II), glomerulonefrite membrano-proliferativa (classe III), glomeruloesclerose focal e segmentar (classe IV) e amiloidose (classe V) (Barsoum, 1993), podendo haver progressão entre estes grupos (De Brito et al., 1999). Em algumas poucas ocasiões, outros tipos histológicos de glomerulopatia foram observados (De Brito et al., 1999; Andrade & Rocha, 1979).

A maioria dos pacientes com lesões de classe I são assintomáticos ou apresentam proteinúria leve, muitas vezes intermitente, e micro-hematúria. Observam-se proliferação mesangial e depósitos de IgM e C3 no mesângio. Antígeno do intestino do verme adulto é freqüentemente identificado no glomérulo. A função renal não é comprometida e a lesão desaparece com o tratamento da infecção esquistossomótica (Barsoum, 2003).

As lesões de classe II ocorrem na salmonelose septicêmica prolongada (co-infecção *S. mansoni* e *Salmonella*). Células inflamatórias e depósitos de C3 são encontrados nos glomérulos. Acredita-se que as lesões glomerulares resultam da ativação do sistema do complemento, pela via alternativa, por toxinas de *Salmonella*. Clinicamente, o envolvimento renal se manifesta por síndrome nefrótica de progressão rápida (Barsoum, 2003). A lesão glomerular regride praticamente de forma completa após o tratamento da esquistossomose e da salmonelose.

Lesões de classe III (Figura 1) ocorrem quase que exclusivamente em indivíduos com a forma hepatoesplênica da esquistossomose mansoni, constituindo-se no tipo mais freqüente de glomerulopatia nos pacientes sintomáticos. Ocorre proliferação das células mesangiais, expansão da matriz extracelular e deposição de IC no mesângio e regiões subendotelial e subepitelial do glomérulo. Os depósitos são compostos principalmente por IgG, IgA e C3. Observam-se proteinúria, freqüentemente em nível nefrótico, e hipoproteinemia. A urina também pode conter hemácias e cilindros hemáticos. Hipertensão arterial é comum e a doença evolui com deterioração progressiva da função renal, sendo necessários procedimentos dialíticos ou transplante renal nas fases mais avançadas. Drogas antiesquistossomóticas, corticóides e imunossupressores não alteram o curso das lesões, que tendem a se perpetuar e progredir devido a mecanismos auto-imunes e deposição de IgA (Barsoum, 2003).

As lesões de classe IV são também observadas em associação à forma hepatoesplênica da esquistossomose mansoni. Caracterizam-se por esclerose glomerular focal e segmentar com discreta proliferação do mesângio e depósitos glomerulares de IgG, IgA e C3. O quadro clínico, a evolução e o prognóstico são iguais aos observados nas lesões de classe III, não havendo resposta ao tratamento (Barsoum, 2003).

Amiloidose (lesão de classe V) freqüentemente se sobrepõe às lesões proliferativas das outras classes e resulta da deposição tissular da proteína amilóide-A, que é um reagente de fase aguda. A IL-10, que é produzida em grandes quantidades devido à expressão prolongada de resposta Th2 na esquistossomose, inibe o clareamento da proteína amilóide-A, que também é produzida de forma abundante em processos inflamatórios crônicos (Barsoum, 2003). O quadro clínico é o de síndrome nefrótica e as lesões são progressivas, não havendo resposta ao tratamento específico da parasitose e nem ao uso de corticóide ou colchicina.

Figura 1 – Glomerulonefrite membrano-proliferativa (mesângio-capilar) difusa. Glomérulo com nítido aumento volumétrico e acentuação da lobulação devido ao amplo alargamento do mesângio por aumento da matriz e moderada proliferação celular. As paredes dos capilares encontram-se espessadas e suas luzes freqüentemente ocluídas. Há hipotrofia de segmentos tubulares e fibrose fina do interstício

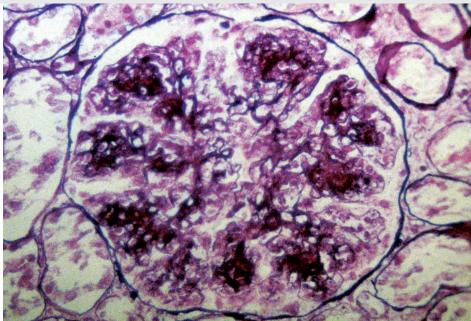



Foto: cortesia do professor Pérsio Godoy, Departamento de Anatomia Patológica e Medicina Legal, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais.

PERSPECTIVAS

Investigações relacionadas ao papel de imunocomplexos e da resposta imune humoral na formação/regulação do granuloma e da resposta inflamatória, bem como à inter-relação existente entre as respostas celular e humoral durante o curso da infecção esquistossomótica devem ser significativamente ampliadas. São ainda poucos os estudos relacionados aos mecanismos e ao processo de regulação e mesmo a identificação clara das vias celulares de ativação que demonstrem o papel que os IC têm no desenvolvimento das formas clínicas da esquistossomose mansoni humana e em modelos experimentais.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, Z. & ROCHA, H. Schistosomal glomerulopathy. *Kidney International*, 16: 23-29, 1979.

BARSOUM, R. S. Schistosomal glomerulopathies. *Kidney International*, 44: 1-12, 1993.

BARSOUM, R. S. Schistosomiasis and the kidney. *Seminars in Nephrology*, 23: 34-41, 2003.

BOUT, D. et al. Circulating immune complexes in schistosomiasis. *Immunology*, 33: 17-22, 1977.

DE BRITO, T. et al. *Schistosoma mansoni* associated glomerulopathy. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 41: 269-272, 1999.

GALVÃO-CASTRO, B. et al. Correlation of circulating immune complexes and complement breakdown products with the severity of the disease in human schistosomiasis mansoni. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 30: 1.238-1.246, 1981.

GHANEM, A. M. S. et al. Circulating immune complexes levels in patients with schistosomiasis and complications. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 81: 773-777, 1987.

GOES, A. M. et al. Granulomatous hypersensitivity to *Schistosoma mansoni* egg antigens in human schistosomiasis. III. In vitro granuloma modulation induced by immune complexes. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 44: 434-443, 1991.

GOES, A. M. et al. Granulomatous hupersensitivity to *Schistosoma mansoni* EGG antigens in human schistosomiasis. IV. A role for prostaglandin-induced inhibition of *in vitro* granuloma formation. *Parasite Immunology*, 16: 11-18, 1994.

HIATT, R. A. et al. Serial observations of circulating immune complexes in patients with acute schistosomiasis. *The Journal of Infectious Diseases*, 142: 665-670, 1980.

JASSIM, A.; CATTY, D. & HASSAN, K. Antibody isotypes of immune complexes in schistosomiasis mansoni in Sudan. *Parasite Immunology*, 9: 651-665, 1987.

JESUS, A. R. et al. Clinical and immunologic evaluation of 31 patients with acute *Schistosoma mansoni* infection. *The Journal of Infectious Diseases*, 185: 98-105, 2002.

LAWLEY, T. J. et al. Circulating immune complexes in acute schistosomiasis. *Clinical and Experimental Immunology*, 37: 221-227, 1979.

NEVES, S. M. F.; REZENDE, S. A. & GOES, A. M. Nitric oxide-mediated immune complex-induced prostaglandin E_2 production by peripheral blood mononuclear cells of humans infected with *Schistosoma mansoni*. *Cellular Immunology*, 195: 37-42, 1999.

RASO, P. Esquistossomose mansônica. In: BRASILEIRO FILHO, G. et al. (Eds.) *Bogliolo Patologia*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994.

RASO, P. & BOGLIOLO, L. Patologia. In: CUNHA, A. S. (Ed.) *Esquistossomose Mansônica*. São Paulo: Sarvier, 1970.

REZENDE, S. A.; LAMBERTUCCI, J. R. & GOES, A. M. Role of immune complexes from pacients with different clinical forms of schistosomiaiss in the modulation of *in vitro* granuloma reaction. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92: 683-687, 1997a.

REZENDE, S. A. et al. IL-10 plays a role in the modulation of human granulomatour hypersensitivity aganist *Schistosoma mansoni* eggs induced by immune complexes. *Scandinavian Journal of Immunology*, 46: 96-102, 1997b.

REZENDE, S. A. et al. *In vitro* granuloma modulation induced by immune complexes in human schistosomiasis mansoni. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 26: 207-211, 1993.

REZENDE, S. A. et al. Down modulation of MGC surface molecules on B cells by supressive immune complexes obtained from chronic intestinal schistosomiasis patients. *Immunology Letters*, 62: 67-73, 1998.

SCHWARTZ, E. Pulmonary schistosomiasis. *Clinics in Chest Medicine*, 23: 433-443, 2002.

VON LICHTENBERG, F. Consequences of infections with schistosomes. In: ROLLINSON, D. & SIMPSON, A. J. G. (Eds.) *The Biology of Schistosomes: from genes to latrines*. London: Academic Press, 1987.

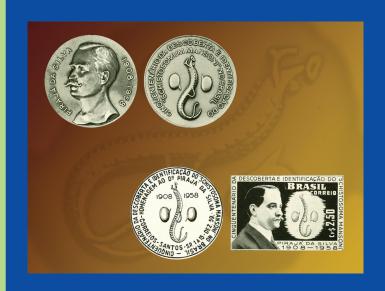
25 Fases e Formas Clínicas da Esquistossomose Mansoni

Aluízio R. Prata
José Rodrigues Coura

Ao lado, acima: medalha cultural Pirajá da Silva (anverso e reverso), alusiva ao cinqüentenário da descoberta da esquistossomose mansoni (1908-1958).

Fontes: Instituto Brasileiro de História da Medicina/Sociedade Brasileira de História da Medicina (IBHM/SBHM), Instituto Histórico e Geográfico de São Paulo (IHGSP), Associação Paulista de Medicina (APM).

Ao lado, abaixo: selo postal comemorativo e carimbo obliterador aplicado na agência dos Correios de Santos (SP), por ocasião do encerramento das comemorações.

Fonte: Empresa Brasileira de Correios e Telégrafos.

Inicialmente, deve-se conceituar a infecção e a doença esquistossomóticas. A infecção esquistossomótica consiste na penetração das cercárias pela pele ou pelas mucosas, quando perdem a cauda, transformando-se em esquistossômulos, que através da corrente sanguínea e/ou linfática atingem o ventrículo direito, sendo levados aos pulmões. Daí, alcançam os vasos intra-hepáticos via ventrículo esquerdo e circulação geral. No sistema porta os vermes jovens tornam-se adultos (machos e fêmeas) e, após acasalamento, migram para as veias mesentéricas e hemorroidárias, onde depositam seus ovos, que podem ser eliminados pelo intestino. Alguns ovos são retidos na submucosa intestinal e outros, regurgitados pela circulação porta para o fígado. Em síntese, a infecção esquistossomótica é a penetração, o desenvolvimento e a reprodução de *Schistosoma*, com eliminação dos seus ovos, enquanto a doença representa os danos causados no organismo pelos vermes, seus ovos e produtos por eles liberados e pelos mecanismos de regulação do hospedeiro (ver capítulos específicos deste livro) e as manifestações clínicas decorrentes. Habitualmente, de modo geral, a palavra esquistossomose engloba a infecção e a doença.

Sob o ponto de vista didático, a esquistossomose é classicamente apresentada pelos clínicos como tendo fases e formas clínicas. Nestas, leva-se em conta o acometimento dos órgãos e principalmente o modo como ele se exterioriza; naquelas, o critério considerado é o evolutivo e, portanto, subordinado ao tempo.

As fases classicamente consideradas são: a fase inicial ou aguda e a fase crônica, ambas podendo ser sintomáticas, oligossintomáticas ou assintomáticas. Já as formas clínicas podem ser várias, de acordo com algumas classificações propostas, a serem tratadas neste capítulo.

FASE INICIAL OU ESQUISTOSSOMOSE AGUDA

A fase inicial da esquistossomose começa com a penetração das cercárias e termina com o desaparecimento da sintomatologia característica desta fase. As reações que provocam e as respectivas manifestações anatomoclínicas dependem, principalmente, das condições em que ocorrem os primeiros contatos com os focos de infecção (Prata, 1978). Assim, deve-se considerar, separadamente, se a infecção acontece em indivíduos expostos ao contágio desde tenra idade ou se ocorre em habitantes que não vivem em contato permanente com os focos de infecção.

Em Habitantes em Contato Permanente com Focos de Infecção

Foi demonstrado em Caatinga do Moura (Prata, 1995), área hiperendêmica de esquistossomose, que a fase inicial da doença ocorre precocemente. Aos quarenta meses de idade, 83% das crianças já tinham exame de fezes e/ou intradermorreação positiva para esquistossomose. No primeiro exame de fezes positivo, o número de ovos nas fezes era inferior a 240 por grama de fezes em 97% e inferior a cem ovos por grama de fezes em 83% das crianças. A carga parasitária vai aumentando progressivamente após sucessivos contatos com os focos de infecção, para atingir o máximo após a idade de dez anos. Portanto, a infecção acontece na primeira infância e com pequena carga parasitária, seguida por reinfecções. Nesses doentes, a fase inicial da infecção passou desapercebida e nenhum apresentou, nos exames mensais, sintomatologia que levantasse suspeita diagnóstica. Nos leucogramas realizados um mês antes ou um mês após o aparecimento do primeiro exame de fezes positivo, a percentagem máxima de eosinófilos no exame do sangue periférico foi de 20% em uma criança e de 5% a 11% nas outras. Contudo, a eosinofilia foi achado freqüente na área, ocorrendo em 119 (25%) dos 468 exames realizados nas crianças quando estas ainda não eliminavam ovos de *S. mansoni*. Portanto, o início da infecção se caracteriza por apresentar forma clínica assintomática e com pouca ou nenhuma eosinofilia.

Somente por força de expressão, em contraposição à fase crônica, se poderia dizer que tais pacientes tiveram fase aguda, sendo melhor chamá-la de fase inicial da infecção (Prata, 1995).

Acredita-se que a situação seja a mesma em outras regiões semelhantes, pois nunca se soube de algum caso com diagnóstico de esquistossomose aguda em área hiperendêmica de esquistossomose.

Em Indivíduos com Contato Esporádico com Focos de Infecção

Ao contrário do ocorrido com os habitantes das áreas hiperendêmicas, onde não há oferta de água potável, os indivíduos que apresentam sintomatologia da fase aguda da esquistossomose não vivem expostos permanentemente aos riscos de infecção, sendo poupados dos contatos com os focos de infecção nos primeiros anos de vida. Eles adquirem a doença após entrar em contato esporádico com águas de riachos, lagoas, poços, piscinas ou outros locais contaminados por cercárias. Freqüentemente, várias pessoas se infectam ao mesmo tempo durante excursões, períodos de férias ou exercícios militares, pois a esquistossomose é fácil de ser adquirida.

Sintomatologia da Fase Aguda

Durante a penetração das cercárias através da pele, ocorre uma reação inflamatória em dois estágios, particularmente em pessoas previamente sensibilizadas por infecções anteriores. No primeiro estágio,

caracterizado por uma resposta imediata, com liberação de substâncias *histamina-like*, formam-se em poucos minutos manchas avermelhadas, por dilatação de arteríolas e capilares, e em seguida prurido, chamado popularmente de 'coceira das lagoas', caracterizando-se por uma reação de hipersensibilidade imediata. O segundo estágio ocorre de 16 a 24 horas após a penetração das cercárias na pele, com o desenvolvimento de pápulas decorrentes essencialmente de uma hipersensibilidade retardada, formando em conjunto uma reação maculopapular pruriginosa, a dermatite cercariana da infecção por *S. mansoni*, como primeira manifestação clínica da infecção esquistossomótica. Do ponto de vista antigênico, as cercárias de *S. mansoni* causam menos resposta do que outras cercárias (Barbosa, 1936) também existentes nas áreas endêmicas ou fora delas. Assim, a referida dermatite não é indício seguro da instalação da forma aguda e nem sua ausência afasta a possibilidade do diagnóstico desta (Neves, 1965). Eventualmente, dependendo da intensidade dessa reação, o paciente infectado pode desenvolver uma 'febrícula' durante cinco a sete dias, antes mesmo das manifestações da fase aguda.

Durante a passagem dos esquitossômulos pelos pulmões na primeira semana da infecção, alguns pacientes podem apresentar tosse seca, leve sensação de mal-estar, astenia, cefaléia, sudorese, anorexia e náuseas, como manifestações prodrômicas, ou podem ser completamente assintomáticos. Durante a instalação dos vermes jovens nos vasos mesentéricos, no período pré-postural, da segunda à quarta semana de infecção, os pacientes podem apresentar dores abdominais e diarréia ocasional. Da quarta à oitava semanas, coincidindo com o início da fase postural, desencadeiam-se as manifestações da fase aguda. Neste momento ocorre um 'conflito imunológico', possivelmente decorrente da liberação de antígenos ovulares, que se caracteriza por febre alta, de início abrupto, cefaléia, calafrios, sudorese, astenia, anorexia, tosse persistente, diarréia, vômitos, distensão e dores abdominais em cólica. Ao exame físico os pacientes apresentam palidez, estado toxêmico semelhante aos casos graves de febre tifóide, hepatoesplenomegalia dolorosa à palpação, com fígado e baço de consistência normal. Alguns pacientes exibem lesões urticariformes com placas eritematosas na pele, prurido generalizado e edema de face, caracterizando uma síndrome de hipersensibilidade. Na auscultação pulmonar encontram-se estertores subcrepitantes como uma resposta hiperérgica do pulmão, representada pela síndrome de Löffler (infiltrado eosinofílico) e às vezes focos de pneumonia consolidados ou infiltrados pulmonares difusos bem visíveis em radiografias do pulmão. Outras vezes as manifestações pulmonares podem ser apenas asmatiformes (Coura et al., 1970).

Em trinta casos estudados por Coura (1979), no Rio de Janeiro, foram constatados febre (22), hepatomegalia (19), astenia (18), cólicas intestinais (16), diarréia (15), cefaléia e esplenomegalia (14), tosse seca (13), emagrecimento (12), náuseas e vômitos (3) e urticária, asma e edema facial (1).

Na Tabela 1 são demonstradas as manifestações clínicas observadas em cinqüenta casos, por Neves, Martins & Tonelli (1966), em Belo Horizonte. Foram encontrados, pelo exame radiológico pulmonar, espessamento hilar, acentuação da vasculatura pulmonar, micronódulos pouco densos e difusamente distribuídos nos pulmões, em alguns casos assemelhando-se à tuberculose.

No sangue destaca-se a leucocitose, que pode ser discreta ou muito elevada, atingindo até cinqüenta mil leucócitos por mm^3, acompanhada de eosinofilia intensa, muitas vezes de 20% a 70% ou até mais. As aminotransferases podem estar discretamente aumentadas e a gamaglobulina apresenta-se muito elevada, bem como a velocidade de sedimentação das hemácias. O mielograma mostra hiperplasia eosinofílica.

Tabela 1 – Manifestações clínicas em cinqüenta casos de esquistossomose aguda estudados em Belo Horizonte

Quadro Clínico	%
Febre	100
Indisposição	100
Anorexia	100
Dores abdominais	96
Diarréia	90
Tosse	86
Sudorese	84
Dores no hipocôndrio direito	82
Disenteria	76
Emagrecimento	76
Mialgias	72
Tenesmo	60
Cefaléia	56
Calafrios	56
Fadiga	44
Insônia	40
Prostração	38
Náuseas	30
Vômitos	26
Dispnéia	22
Manifestações cutâneas imediatas	12
Eructações	10
Obstipação	8
Soluços	8
Coma	8
Dores torácicas	6
Enterorragia	6
Epistaxes	4
Desmaios	4

Fonte: Neves, Martins & Tonelli (1966).

A sintomatologia da fase aguda da doença nem sempre se apresenta como mencionado; pode ser discreta, com formas clínicas leves, apenas com febrícula, diarréia, cefaléia, astenia e anorexia, ou mesmo assintomática (Rocha et al., 1993). Em outros casos, com grande carga parasitária, ocorre a forma pulmonar micronodular (Neves, Tonelli & Carvalho, 1966), com grande disseminação dos ovos nos pulmões, ou a infecção pode se tornar invasiva, com quadro clínico de abdômen agudo com infiltração

dos plexos mesentéricos por granulomas, simulando uma carcinomatose abdominal ou outras formas pseudotumorais com ascite e grande distensão abdominal (Coura, 1979). Neves (1970) menciona que a doença pode se exteriorizar como tipos pseudocolérico, pseudotífico, pseudo-abdominal cirúrgico, pseudotuberculoso, pseudo-hepático, pseudodisentérico bacilar, pseudonefrítico, pseudo-enterovirótico, reativado e latente.

Rodriguez (1942) acentua que no período inicial a esquistossomose pode apresentar as seguintes formas clínicas:

- latente, assintomática ou ambulatória;
- febril subaguda;
- toxêmica, septicêmica ou tifóidica.

A fase aguda da esquistossomose às vezes é chamada de forma toxêmica e outras, de febre de Katayama. A designação forma toxêmica deveria ser reservada para uso quando as manifestações da fase aguda fossem intensas (Raso, Pedroso & Neves, 1986; Ferreira et al., 1966), no sentido em que o termo foi usado pela primeira vez por Fairley (1918-1919). Quanto à doença de Katayama, descrita inicialmente por Fujii (1847) e posteriormente relacionada a *Schistosoma japonicum* (Katsurada, 1904), parece se identificar melhor com a hepatoesplenomegalia da fase crônica e não como sinônimo da fase aguda da esquistossomose japônica (Prata, 1995). No distrito de Katayama e em outros locais do Japão, na época do plantio de arroz, os trabalhadores apresentavam uma erupção cutânea, que pelo seu início súbito era chamada *kabure*; ao contrário do que se pensou durante muito tempo, esta severa dermatite não era causada pelas cercárias de *S. japonicum* (Cort, 1950; Faust & Meleney, 1924). A primeira descrição da fase aguda da esquistossomose foi feita por Lambert (1910), quando observou alguns pacientes na China apresentando a chamada febre do rio Yangtze. Na época ele não soube o significado daquela febre com prurido e somente após sugestão de Henry S. Houghton, diretor da Faculdade de Medicina de Pequim, considerou a entidade como fase aguda da infecção (Lambert, 1911).

A febre e os sintomas da fase aguda desaparecem paulatinamente, muitas vezes ultrapassando um mês e não raro dois. A hepatoesplenomegalia regride mais lentamente. A quase totalidade dos pacientes crônicos não referem história de fase aguda.

FASE CRÔNICA

As classificações das formas clínicas, além do aspecto didático, que de *per se* as justificariam, são úteis do ponto de vista clínico, pelas associações implícitas com a morbidade, a determinação do prognóstico e a orientação terapêutica; e do ponto de vista epidemiológico, na avaliação da importância da doença. Contudo, nenhuma delas satisfaz inteiramente, pela dificuldade no estabelecimento de critérios e em se enquadrar todos os casos dentro dos mesmos.

No estudo das formas clínicas da esquistossomose a maioria dos autores se preocupa mais com as formas anatomoclínicas, procurando localizar as lesões determinadas pela doença nos diferentes órgãos. Contudo, Dias (1949) e Rodrigues da Silva (1949) chamam a atenção sobre certos aspectos que devem ser levados em consideração, entre outras razões, por suas implicações diagnósticas, prognósticas, epidemiológicas e de conduta terapêutica. Assim, de acordo com a atividade parasitária, a esquistossomose

pode ser ativa, se há vermes vivos, ou inativa, na ausência dos mesmos, podendo o quadro clínico resultar de infecção extinta espontaneamente ou em conseqüência de tratamento específico.

Levando-se em conta a sintomatologia, tanto a esquistossomose ativa como a inativa podem apresentar formas sintomáticas ou assintomáticas ou a sintomatologia ser periódica. Mas a dificuldade maior reside em discernir o que se deve atribuir à esquistossomose, devido à intercorrência de outras doenças e à inespecificidade da sintomatologia.

O diagnóstico de formas anatomoclínicas da esquistossomose pressupõe a localização topográfica da moléstia, mas sem implicar que vermes ou ovos, necessariamente, sejam encontrados no órgão; por exemplo, no baço da forma hepatoesplênica ou no rim da nefropatia esquistossomótica não se vêem o parasito ou seus ovos. Entre nós, a classificação das formas clínicas teve começo com Valladares (1919), que preferia designar as localizações da doença como 'determinações', e assim ele considerou:

- formas clínicas ligadas à migração normal ou habitual do parasita: determinações pulmonares, hepáticas e retais;
- formas clínicas ligadas à migração anormal dos esquistossomas: determinações mesentéricas, esplênicas, gástricas, pancreáticas e outras determinações. Estas outras determinações foram posteriormente denominadas por Tavares (1935).

Com a finalidade de interpretar seus achados no estudo da esplenomegalia, cirrose e ascite, no Egito, Day (1924) concebeu dois tipos principais de esquistossomose, o intestinal e o hepático. Na opinião de Meira (1951), foi esta classificação que influenciou Girges (1934) a adotar a forma intestinal e a visceral (hepática). Apesar de certa confusão da classificação de Girges, pois sua forma intestinal pode apresentar hepatomegalia e esplenomegalia, desde então quase todos os clínicos aceitam dois tipos ou formas clínicas: intestinal e hepatoesplênica (Pons, 1937), hepatointestinal e hepatoesplênica (Parpacén, 1939; Rodriguez, 1942) ou hepatointestinal e hepatoesplênica intestinal (Rodrigues da Silva, 1949). Meira (1951) acha que em qualquer das duas formas, a localização intestinal está implícita, pois as lesões intestinais sempre estão presentes, podendo ou não haver sintomas. Aliás, se considerada somente a localização topográfica das lesões, literalmente, tais formas anatomoclínicas, na opinião de patologistas, são errôneas (Pinto & Almeida, 1945) e sujeitas a interpretação inadequada (Koppisch, 1941). Baseando-se somente no achado de elementos esquistossomóticos, em 45 necropsias, Valladares (1953) estabeleceu as seguintes formas: porto-intestinal (ovos somente no intestino, em forma inativa da doença), hepatointestinal, hepatoesplênico intestinal, porto-pulmonar (intestino-hepatoesplenopulmonar) e panvisceral (passagem de ovos pela barreira pulmonar).

Em 1975, por ocasião do IV Congresso Brasileiro de Hepatologia, realizado em Belo Horizonte, foi feita uma reunião de clínicos (Prata, J. Asfora, Coutinho, Teixeira e Neves) e patologistas (Bogliolo e Andrade) para a elaboração de uma classificação clínico-patológica da esquistossomose mansoni (Prata et al., 1976). Foram admitidos dois critérios. O primeiro, clínico-evolutivo, fundamentou a seguinte classificação:

Classificação clínico-evolutiva

- Fase inicial
    - Inaparente, leve ou moderada;
    - Grave.

- Fase crônica
    - Inaparente;
    - Grave.
        - Com hipertensão porta-compensada, descompensada, complicada;
        - Com hipertensão pulmonar.
    - Especial
        - Pseudoneoplásica;
        - Ectópica;
        - Associada.

O segundo critério, anatomoclínico, resultou na seguinte classificação:

Formas anatomoclínicas

- Fase inicial
    - Forma inaparente;
    - Forma aguda.
- Fase crônica
    - Forma assintomática;
    - Forma intestinal;
    - Forma hepatointestinal.
- Forma hepatoesplênica, descompensada, complicada (glomerulopatia, linfoma esplênico, trombose portal)
    - Forma vásculo-pulmonar
        - Hipertensiva;
        - Cianótica.
    - Forma tumoral ou pseudoneoplásica;
    - Formas ectópicas.

Rodrigues da Silva (1949) classificou as formas anatomoclínicas da esquistossomose mansoni crônica em formas fundamentais e formas acessórias ou secundárias, podendo estas últimas, de acordo com Faust (1948), serem tópicas ou ectópicas. As fundamentais seriam a hepatointestinal e a hepatoesplênica intestinal, de vez que a sintomatologia dessas localizações "estão sempre presentes, em todos os casos de esquistossomose mansoni sintomática" (Faust 1948). As acessórias, segundo Rodrigues da Silva (1949), não se constituem em formas anatomoclínicas independentes ou autóctones, pois, salvo em raras exceções, elas não são senão uma 'determinação' a mais da parasitose, que amplia o quadro das exteriorizações clínicas das localizações fundamentais. Mas, às vezes, como sucede nas formas neurológicas graves, tais formas assumem uma individualização, relegando para um plano secundário a forma fundamental. O mesmo poderá ocorrer com algumas exteriorizações clínicas, que assumiriam um caráter autônomo ou pelo menos mais evidente. Entre as formas acessórias tópicas, Rodrigues da Silva (1949) relacionou a apendicular, a colecística, a pancreática, a peritoneal, a pulmonar e outras não especificadas; e, entre as ectópicas, a cerebral, a medular, a cutânea, a visual etc.

Para uso epidemiológico, em trabalho de campo, Pessoa & Barros (1953) adotaram a classificação em intestinal, hepatointestinal e hepatoesplênica (compensada e descompensada). Barbosa (1966) simplificou a classificação de Pessoa & Barros para infecção, doença forma hepatointestinal e doença forma hepatoesplênica (compensada e descompensada). Meira (1963) elaborou para uso clínico uma detalhada classificação, mais completa, considerando os aspectos anatomoclínicos, evolutivos e fisiopatológicos nos seguintes tipos:

- Esquistossomose mansoni inicial, aguda ou toxêmica;
- Esquistossomose intestinal ou hepatointestinal;
- Esquistossomose hepatoesplênica:
  - com normopressão portal;
  - com hipertensão portal;
  - compensada;
    - descompensada;
    - complicada (trombose portal ou esplênica);
    - associada ou mista (com cirrose hepática).
- Esquistossomose pulmonar:
  - sem hipertensão pulmonar (granulomatosa e infiltrativa);
  - com hipertensão pulmonar (cor pulmonale crônico);
    - sem insuficiência cardíaca;
    - com insuficiência cardíaca.
- Formas acessórias:
  - tópicas;
  - ectópicas.

Posteriormente, Meira (1991) acrescentou como forma associada ou complicada da esquistossomose mansoni a salmonelose septicêmica, a glomerulopatia esquistossomótica e a forma tumoral.

A ultra-sonografia trouxe um grande avanço para o estudo da morbidade da esquistossomose e o conhecimento das suas formas anatomoclínicas, tanto a hepatointestinal como a hepatoesplênica. Ela permite visualizar o espessamento das paredes e o calibre da veia porta em diferentes níveis, os sinais de hipertensão portal, o tamanho e a superfície do fígado (Abdel-Wahab et al., 1978; Cerri, Alves & Magalhães, 1984), o tamanho do baço e facilita o diagnóstico diferencial de outras hepatopatias (Homeida et al., 1988a). Ademais, não é um método invasivo e serve para trabalho de campo, conforme foi demonstrado por Homeida et al. (1988b). A Organização Mundial da Saúde (WHO, 1985) recomendou o método ultra-sonográfico para estudo da morbidade por *S. mansoni.* Homeida et al. (1988b) apresentaram uma classificação da fibrose de Symmers em três graus.

Surgiram outras classificações (Doehring-Schwerdtfeger et al., 1989), sendo uma da OMS (WHO, 1991), conhecida como Classificação do Cairo, uma tentativa para padronizar o uso do ultra-som em comunidades. Os protocolos preparados foram usados em várias áreas endêmicas. Os resultados mostraram não haver boa concordância entre diferentes examinadores e surgiram dúvidas sobre o significado dos

espessamentos periportais discretos. A OMS (WHO, 1996) reviu o Protocolo do Cairo, daí surgindo o Protocolo de Niamey. Um grupo de especialistas discutiu o Protocolo de Niamey, elaborando um guia prático, introduzindo as 'pranchas' ou desenhos esquemáticos representativos dos escores de espessamento periportal (WHO, 1997). Foram feitos estudos de campo baseados na aplicação do Protocolo Niamey/Belo-Horizonte, em Uganda, Senegal, Brasil e Camboja (WHO, 1997).

Entre as formas clínicas, dar-se-á ênfase, neste capítulo, às formas fundamentais, e individualizar-se-ão as acessórias que, por sua freqüência, gravidade ou outra pecularidade mereçam mais destaque. As formas fundamentais são duas: a hepatointestinal e a hepatoesplênica. Todos os pacientes examinados, principalmente em estudos de campo, devem, pelo menos inicialmente, ser incluídos em uma ou outra.

Forma Hepatointestinal

Também chamada de forma habitual, por acometer a maioria dos indivíduos contagiados. Pode ainda ser denominada de forma leve, pela freqüente benignidade da sintomatologia (Prata, 2002). Habitualmente, são inseridos na forma hepatointestinal os indivíduos não hepatoesplênicos, considerando que todo doente que elimina ovos de *S. mansoni* pelas fezes também apresenta ovos e granulomas isolados no fígado. Pelo mesmo motivo, a maioria dos autores prefere não individualizar uma forma intestinal pura (Bogliolo, 1981), inclusive pelas dificuldades diagnósticas e pelo pouco interesse clínico em separar a forma intestinal da hepatointestinal.

As manifestações clínicas da chamada forma hepatointestinal são imprecisas e podem ser decorrentes da associação com parasitoses intestinais e outros distúrbios digestivos, problemas alimentares e até ligados ao estresse, como assinalou Meira (1991), em pacientes que saem das áreas rurais e vão para as grandes cidades. Muitos indivíduos na fase crônica são assintomáticos. Cerca da metade apresenta episódios de diarréia ocasionais e de curta duração, intercalados com períodos de obstipação. Freqüentemente há muco e/ou estrias sanguíneas nas fezes (Peixinho, André & Bina, 1986). Outros doentes referem dores abdominais, intolerâncias alimentares, sonolência pós-prandial, náuseas, insônia, astenia, emagrecimento, mialgias e, mais raramente, azia, anorexia, extremidades frias, palpitações, impotência, sudorese etc. Esses e outros sintomas inespecíficos tornam-se vinculados à esquistossomose, às vezes surpreendentemente, ao desaparecerem após o tratamento antiesquistossomótico. Ao exame clínico o tamanho do fígado oscila de impalpável a alguns centímetros abaixo do rebordo costal. A consistência do órgão geralmente é flácida e sua superfície, lisa. Também em hemogramas de rotina encontram-se com freqüência eosinofilias discretas, menores que 20%; podem ser encontrados também discretos aumentos de gamaglobulina e, mais raramente, da alanina aminotransferase.

Ainda que, na maioria das vezes, as lesões encontradas na forma hepatointestinal sejam mais leves e menos graves, isto nem sempre ocorre. Tanto no intestino como no fígado pode haver lesões mais avançadas em portadores da forma hepatointestinal. Assim, no intestino encontram-se alterações que justificam alguns diagnósticos como forma estenosante (Domingues & Coutinho, 1990; Richter, 2003) e colite esquistossomótica (Rodrigues da Silva, 1949). Lobo (1947) chamou a atenção para o endurecimento da alça sigmóide, tendo Rodrigues da Silva (1949) encontrado a corda sigmóide em 38% de 113 pacientes examinados, a qual resulta da proliferação e do aumento de espessura da parede intestinal. Na literatura nacional (Sant'Ana & Rebouças, 1970; Sant'Ana, s/d) e na estrangeira (Warren & Newill, 1967) há muitas

referências a casos de apendicite esquistossomótica, geralmente encontrados pelo exame histopatológico. Os pólipos, entre nós (Magalhães, 1980), não são vistos com a freqüência referida na literatura egípcia (Ouma et al., 2001), tendo Bogliolo (1981) encontrado 5% em necropsias em Belo Horizonte, na maioria das vezes múltiplos. São mais freqüentes no reto, raros no sigmóide e excepcionais nas outras partes do intestino grosso e delgado (Alvarenga & Pinto, 1960; Bicalho & Souza, 1964). Raso & Bogliolo (1970) acentuam que inclusive no Brasil tais lesões intestinais são agora menos freqüentes do que outrora, o mesmo acontecendo com ulcerações após a queda dos pólipos, que com papilomas e estenose produziam a retite esquistossomótica (Silva, 1945), às vezes de difícil diagnóstico com o linfogranuloma venéreo (Tibiriçá, 1938). Outras lesões intestinais formam tumores que, por suas conseqüências, adquirem individualidade, passando a constituir formas pseudoneoplásicas, adiante mencionadas. O mesmo ocorre com a chamada fibrose perintestinal ou pericólica, resultante da deposição de ovos no tecido adiposo ao redor do cólon ou do reto. Ela ocorreu em 11,2% de 232 necropsias realizadas em Salvador. Esta prevalência foi quatro a cinco vezes maior do que a das formas intestinais pseudoneoplásicas ou pólipos (Andrade & Bina, 1983).

Quanto ao fígado, em alguns pacientes com a forma hepatointestinal o órgão tem consistência dura e superfície nodular e proeminência do lobo esquerdo, características indicativas de fibrose periportal. Tais alterações são idênticas às encontradas na forma hepatoesplênica (Prata & Andrade, 1963), desta se diferenciando por ter baço ou impalpável ou palpável, mas sem atingir o rebordo costal. Denomina-se esta forma como hepatointestinal, com lesões hepáticas avançadas. Em áreas endêmicas são freqüentes os achados deste tipo de fígado com estas características, cuja interpretação pelos clínicos é de fibrose de Symmers sem esplenomegalia, segundo verificado pela ultra-sonografia, confirmando os dados de necropsias (Prata & Andrade, 1963). A maioria destes doentes não tem hipertensão porta (Prata & Andrade, 1963). O ultra-som vem mostrando que a freqüência de fibrose periportal é ainda maior do que se supunha (Homeida et al., 1988b; Lambertucci et al., 2000; Abdel-Wahab et al., 1990; Barbosa, 2003) e que em muitos pacientes não são encontrados os sinais clínicos hepáticos antes mencionados, que permitem suspeitá-la (Magalhães et al., 2005). Pelo ultra-som, pode-se subdividir a forma hepatointestinal em sem fibrose periportal e com fibrose periportal ou, em outras palavras, sem e com lesões hepáticas avançadas.

Forma Hepatoesplênica

A designação mais precisa para esta forma seria hepatoesplênica intestinal, porém o uso consagrou a abreviação. Esta forma anatomoclínica tem sido usada como principal indicador de morbidade da doença, presumindo-se que seu portador tenha fibrose hepática periportal do tipo da descrita por Symmers (1904), associada à esplenomegalia e geralmente à hipertensão portal. A fibrose de Symmers é a contrapartida anatômica da esquistossomose hepatoesplênica (Andrade, 2004). Esta conceituação, aparentemente simples, tem sido motivo de muitas controvérsias, sendo importante o critério usado para se classificar um paciente como tendo a forma hepatoesplênica. Como tem sido enfatizado (Bambirra et al., 1984; Prata, 1993), esquistossomose hepatoesplênica é uma definição clínica e não é sinônimo de fibrose periportal, pois esta, conforme dito anteriormente, pode ser encontrada sem esplenomegalia, confirmada pelo ultra-som (Lambertucci et al., 2001) ou por exame anatomopatológico (Prata & Andrade, 1963). A forma hepatoesplênica da esquistossomose não é sinônimo de simples hepatoesplenomegalia (WHO, 1997), mesmo porque no seu diagnóstico é mais importante a consistência do fígado do que seu tamanho.

Quanto ao baço, o simples achado de um baço palpável sob o rebordo costal, principalmente com consistência flácida, este esteja eliminando ovos de *S. mansoni* e com hepatomegalia, não caracteriza a forma hepatoesplênica da doença. No exame de comunidades, mesmo sem ser em área endêmica de esquistossomose, há sempre uma porcentagem de indivíduos com baço palpável sob o rebordo costal somente na inspiração. Como em geral o fígado é muito flácido e não há proeminência do seu lobo esquerdo, tais indivíduos não devem ser considerados hepatoesplênicos. Eles não têm fibrose periportal, conforme vem sendo confirmado pela ultra-sonografia (Lambertucci et al., 2001). Mas, esta discreta esplenomegalia muitas vezes pode estar relacionada à esquistossomose, devendo ser considerada hiperplasia do órgão e não conseqüência de hipertensão porta. Sua presença raramente constitui indício de que a doença esteja evoluindo para a forma hepatoesplênica. Em 32 indivíduos que vieram a desenvolver a forma hepatoesplênica em Caatinga do Moura (Bina & Prata, 1983), somente em cinco (15%) o baço estava palpável na inspiração profunda, em exame realizado três anos antes, sendo esta percentagem semelhante à encontrada na população geral da área. Em 27 (85%), a forma hepatoesplênica se instalou em indivíduos com baço impalpável três anos antes.

Quando não se dispõe do ultra-som, o diagnóstico da forma hepatoesplênica, do ponto de vista clínico, em área endêmica, pode ser feito pelo achado de fígado duro, muitas vezes nodular e quase sempre com lobo esquerdo proeminente, ao lado de esplenomegalia alcançando pelo menos o rebordo costal (Prata, 1970) e com baço duro, depois de excluídas outras causas de hepatoesplenomegalia.

O paciente hepatoesplênico pode apresentar as queixas referentes à esquistossomose hepatointestinal e mais aquelas devidas ao maior comprometimento hepático e conseqüentes hipertensão porta e esplenomegalia. Instalada a forma hepatoesplênica, a doença deixa de ser considerada uma doença benigna e passa a ser uma doença potencialmente grave, principalmente pelo risco de hemorragias digestivas, complicações pelo acometimento de outros órgãos e associações mórbidas. Muitos hepatoesplênicos vivem normalmente, ignoram sua doença e falecem em idade avançada por causas não relacionadas à esquistossomose. Contudo, outros apresentam hemorragias digestivas, na maioria das vezes hematêmeses, mas também melenas; geralmente é nesta circunstância que procuram os hospitais. As hemorragias aparecem inopinadamente. São copiosas e muitos doentes falecem no primeiro episódio. Alguns sangram uma única vez e outros têm episódios repetidos. Após a hemorragia o paciente fica anêmico e desenvolve ascite, a qual comumente responde rapidamente ao tratamento. Muitos jovens hepatoesplênicos em que a hepatoesplenomegalia se instala em idade de cinco a doze anos têm baixa estatura e infantilismo (Figura 1).

Ao exame clínico do abdômen, em muitos doentes chama a atenção a ausência de circulação superficial abdominal, em contraste com a presença de abundante circulação colateral profunda evidenciada pelos exames por imagem. Geralmente a maioria dos pacientes, quando examinados nas áreas endêmicas, não apresentam sinais de insuficiência hepática como angioma estelar, eritema palmar, redução da massa muscular, ginecomastia, ascite ou icterícia. Tais manifestações podem aparecer quando a doença se descompensa, em decorrência de hemorragias, alcoolismo, hepatite por vírus ou outros fatores ainda não conhecidos. Complicações como trombose das veias porta e/ou esplênica podem agravar a hipertensão portal.

Quando o baço é volumoso, muitos doentes referem a sensação de ter uma tábua no abdômen; podem se queixar de dor no epigástrico, principalmente pela compressão.

Figura 1 – Paciente com a forma hepatoesplênica da esquistossomose mansoni

Os exames complementares são importantes para o diagnóstico, a orientação terapêutica e o prognóstico. A fibrose periportal é evidenciada pelo ultra-som ou pela ressonância magnética; a radiografia do esôfago (Figura 2) apresenta as varizes indicativas de hipertensão porta. A esplenoportografia fornece mais informações sobre a hipertensão porta, os bloqueios da circulação porta e a circulação colateral (Figura 3).

Figura 2 – Radiografia apresentando volumosas varizes esofagianas em caso de hipertensão porta

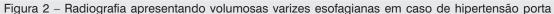
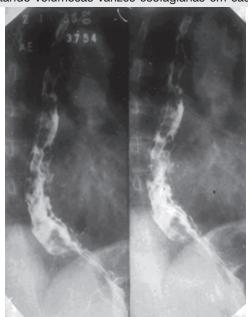



Figura 3 – Esplenoportografia de paciente hepatoesplênico, mostrando alargamento das veias porta e esplênica, colaterais descendentes e ascendentes e sinais de bloqueio (*stop*) dos ramos intra-hepáticos da porta

O exame dos elementos figurados do sangue periférico mostra neutropenia com leucopenia, anemia e plaquetopenia. No mielograma há bloqueio na maturação dos neutrófilos na transição da fase de bastões para a de segmentados. As provas de função hepática auxiliam na avaliação do grau de insuficiência hepática.

Em 4.652 portadores de esquistossomose, procedentes de vários estados do Brasil, observados por Coura et al. (1982) no Rio de Janeiro durante vinte anos, 12,8% eram da forma hepatoesplênica e 87,2%, hepatointestinal. Dos hepatoesplênicos, 77,67% tinham idade entre dez e 39 anos, 62% eram do gênero masculino, 90,3% eram brancos ou mestiços e apenas 9,7% eram negros.

Em Pernambuco, Barbosa (1966) assinala 4% de hepatoesplênicos em Água Preta, 7% em Curcuranas e nenhum em Muribocas e Guararapes; Barbosa et al. (1970a) registram 1%-2% em São Lourenço da Mata. No Rio Grande do Norte, Barbosa et al. (1970b) encontraram 4% de hepatoesplênicos em Pureza e 0% em Maranguape.

Em cinco áreas endêmicas estudadas por Coura et al. (1983), sendo três em Minas Gerais – Itanhomi (Conceição & Coura, 1978; Conceição et al., 1978), Capitão Andrade (Conceição & Coura, 1980) e Padre Paraíso (Santos & Coura, 1986) – e duas outras no Nordeste – Riachuelo (Menezes, 1976; Menezes & Coura, 1979), em Sergipe, e Alhambra (Mendonça, 1982), na Paraíba –, a prevalência da forma hepatoesplênica foi, respectivamente, de 5,8%, 5,8%, 4,4%, 2,4% e 2,4%. Surpreendentemente, as áreas do Nordeste (Riachuelo e Alhambra) mostraram menor percentual de formas hepatoesplênicas e de aparecimento mais tardio. Ainda em Minas Gerais, Katz et al. (1978) encontraram 0,9%, 5,7% e 11% de hepatoesplênicos, respectivamente, em Calciolândia, Tuparecê e Comercinho do Bruno. Na Bahia, a prevalência de formas hepatoesplênicas em Catolândia, Brejo do Espírito Santo, Taquarandi, Caatinga do Moura e Inhaúmas foi, respectivamente, 12,3%, 12%, 10,5%, 3,3% e 3,2% (Prata, 1993); em Boa Esperança, 4,8% (Prata et al., 1980); em Canabrava, 0,8% (Bina & Prata, 1974); e, em Mirangaba, 1,1% (Bina & Prata, 1980).

Esquistossomose Pulmonar

A esquistossomose pulmonar ou cardiopulmonar (Marques, 1951, 1964) é uma decorrência da forma hepatoesplênica, com abertura das colaterais venosas e passagem de ovos para a veia cava superior e embolização pulmonar onde se formam granulomas e/ou fístulas arteriovenosas. As lesões resultantes localizam-se na árvore arterial ou no parênquima pulmonar. A esquistossomose pulmonar crônica pode ser classificada nas seguintes formas anatomoclínicas (Coura, 1979) (Quadro 1):

Quadro 1 – Classificação das formas anatomoclínicas da esquistossomose pulmonar crônica

Vascular	Com hipertensão pulmonar	Cianótica ou
	Sem hipertensão pulmonar	Acianótica
Nodular	Micronodular	Isolada ou
	Macronodular	Associada com outras formas
Intersticial		
	Pós-tratamento	

Fonte: Coura (1979).

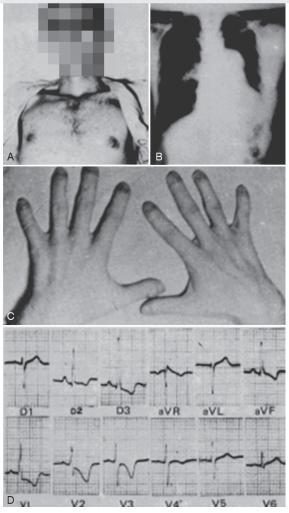
Em realidade, não há uma classificação clínica satisfatória da esquistossomose pulmonar. Santiago & Ratton (1970), estudando 53 portadores da esquistossomose pulmonar, tentaram classificá-la em quatro grupos:

- 21 casos sem hipertensão pulmonar e sem cianose;
- 24 casos com hipertensão pulmonar e sem cianose;
- três casos sem hipertensão pulmonar e com cianose;
- cinco casos com hipertensão pulmonar e com cianose.

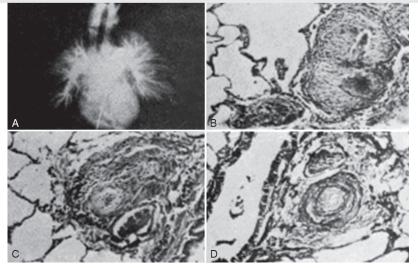
A maioria dos autores simplifica a forma de apresentação em esquistossomose com hipertensão pulmonar ou com cianose.

Do ponto de vista radiológico, fazendo uma adaptação da classificação de Erfan et al. (1949), pode-se classificar a esquistossomose cardiopulmonar em três graus (Coura et al., 1963):

- Grau I – Artérias basais do pulmão tortuosas, arco médio do coração retificado ou abaulado, com área cardíaca normal.
- Grau II – Pedículo hilar denso, cone da pulmonar saliente, com moderado aumento da área cardíaca.
- Grau III – Vascularização periférica do pulmão reduzida ou ausente, pedículo hilar muito denso, cone da pulmonar proeminente ou aneurismático, com grande aumento da área cardíaca, particularmente das cavidades direitas. A Figura 4 mostra um caso de hipertensão pulmonar esquistossomótica, com cianose e dedos em baqueta de tambor, cone da pulmonar proeminente e eletrocardiograma com sinais de intensa hipertensão pulmonar.

Figura 4 – A) Paciente com grave hipertensão pulmonar esquistossomótica. B) Radiografia de tórax mostrando dilatação do cone da pulmonar, grande pobreza vascular periférica do pulmão, sinais de aumento do ventrículo direito e derrame pleural à esquerda. C) Mãos do mesmo paciente, mostrando dedos em baqueta de tambor. D) Eletrocardiograma com sinais de intensa sobrecarga sistólica do ventrículo direito em paciente com hipertensão pulmonar esquistossomótica

Shaw & Ghareeb (1938) sistematizaram as lesões histopatológicas da esquistossomose pulmonar, embora a relacionasse à doença de Ayerza; Meira (1942) mostrou não haver a referida relação e criou o termo arterite pulmonar esquistossomótica.

A lesão vascular se faz, segundo Chaves (1965) e Andrade & Andrade (1970), pelo impacto do ovo de *S. mansoni* nos pequenos vasos pulmonares, determinando a arterite necrotizante ou a arterite difusa com trombose hialina possivelmente relacionadas a fenômeno de hipersensibilidade, ambas levando ao espessamento da íntima com diminuição ou oclusão do lúmen arteriolar e, finalmente, às modificações vasculares decorrentes da hipertensão vascular pulmonar com alterações das camadas média e íntima das arteríolas pulmonares e, conseqüentemente, à hipertensão pulmonar e à formação de circulação vicariante com vasos neoformados angiomatóides, recanalização etc. (Coura, 1979) (Figura 5).

Figura 5 – A) Artérias pulmonares contrastadas *post-mortem*, mostrando redução dos ramos mais finos por obstrução (fenômeno de *stop*). B) Ovos de *Schistosoma mansoni* no lúmen arteriolar semi-obstruído por granulomas. C/D) Arteríolas pulmonares com exuberante espessamento fibroso da íntima

Faria et al. (1957) descreveram as fístulas arteriovenosas e seus mecanismos como causa da síndrome cianótica na esquistossomose pulmonar. Embora haja dúvidas quanto aos mecanismos dessas fístulas e de sua importância nas síndromes cianóticas, parece que elas são devidas à necrose arteriolar e à migração do ovo de *S. mansoni* com formação de lesões perivasculares, abrindo comunicações arteriovenosas. Discute-se a possibilidade da preexistência de fístulas não funcionantes, que se tornariam patentes forçadas pela hipertensão pulmonar. De outra parte, é conhecida a presença de fístulas arteriovenosas nas hepatopatias crônicas (cirrose hepática), inclusive com síndrome cianótica, como foi demonstrado em diversos trabalhos citados por Sherlock (1975). A própria hipertensão pulmonar grave, mesmo na ausência de fístulas arteriovenosas, pode levar a graus variáveis de cianose por dificuldade de difusão gasosa, pela lesão ou pela insuficiência cardíaca.

A forma pulmonar nodular pode-se apresentar com o aspecto micronodular, comprometendo difusamente o parênquima pulmonar, indistinguível da tuberculose miliar, com a qual pode estar associada conforme casuística dos autores deste capítulo, ou pode-se apresentar com nódulos maiores (macronodular) isolados, comprometendo estruturas bronquiolares e vasculares, podendo inclusive levar a bronquiectasias com hemoptises, confundindo-se muitas vezes com processos neoplásicos e tuberculosos, com os quais pode muitas vezes vir associados. A associação esquistossomose-tuberculose pulmonar é relativamente freqüente e já foi assinalada desde os trabalhos de Pinto (1937) e Silveira (1944).

Finalmente, a forma de 'pneumonite intersticial' ocorre como um fenômeno de hipersensibilidade não somente na forma toxêmica da infecção, mas, também, no decurso do tratamento específico, como foi demonstrado entre outros por Prata & Machado (1960) e Magalhães Filho et al. (1961), e que é provavelmente devido ao *lung shift* de vermes no decurso do tratamento, como verificou Dickerson (1965).

A freqüência da esquistossomose cardiopulmonar depende da população estudada e do tipo de estudo realizado. A hipertensão pulmonar é mais encontrada nos hepatoesplênicos do que nos esquistossomóticos em geral, e também nos doentes hospitalizados, em comparação com os das áreas endêmicas. Pelo

cateterismo cardíaco (Vinhaes et al., 1977), em 141 hepatoesplênicos de área endêmica houve 19 (13%) com hipertensão pulmonar. Bertrand et al. (1978), em 37 doentes hospitalizados, encontrou em oito (21,6%) hipertensão pulmonar. Em 134 pacientes esquistossomóticos com hipertensão porta, havia dois pacientes com síndrome cianótica. Contudo, fazendo-se o estudo dos gases sanguíneos, a hipoxemia foi evidenciada em 38 (28,3%) (Guimarães et al., 1977).

Mesmo no período de estado da esquistossomose, encontram-se casos da forma pulmonar com lesões exsudativas recentes, sobretudo em crianças, lesões essas que podem regredir com o tratamento específico.

Em outros casos crônicos com lesões antigas e estabelecidas, não há possibilidade de regressão das lesões e os pacientes caminham fatalmente para o óbito em curto prazo.

Os aspectos radiológicos da esquistossomose pulmonar foram estudados principalmente por Sirry (1948) e Erfan et al. (1949). Chiang & Chang (1958), estudando 47 casos recentes de esquistossomose japônica, encontraram um aspecto mosqueado do pulmão em 22 casos, pequenos focos de infiltração em 16, infiltrado difuso em três, infiltrado miliar em cinco e infiltrado nodular em apenas um.

A casuística de Coura (1979) é em sua maioria constituída de casos crônicos; desta forma, 19 dos trinta casos estudados estavam no grau III da classificação de Erfan et al. (1949) modificada por Coura et al. (1963), já descrita. Seis casos apresentavam alterações de grau II e apenas cinco de grau I. No estudo aleatório de mil portadores de esquistossomose, foram encontrados 2,7% do grau I, 0,6% do grau II e 0,9% do grau III. Entretanto, a grande maioria dos casos classificados no grau I não pôde ser confirmada, e seriam mais bem classificados como 'casos duvidosos', uma vez que não se fez biópsia pulmonar e a simples radiografia do tórax não autoriza a confirmar o achado.

O padrão eletrocardiográfico na esquistossomose pulmonar avançada se confunde com o padrão da hipertensão pulmonar, ou seja, SÂQRS desviado para a direita, em geral voltado para a frente com um SÂT em oposição e voltado para trás (Coura, 1979) (Figura 4D).

Forma Pseudoneoplásica

Conhecida também como forma tumoral, tem interesse prático, embora seja pouco freqüente, por simular uma neoplasia maligna, pela sintomatologia obstrutiva ou de compressão e pelo aspecto granulomatoso ou a consistência dura das lesões. Muitas vezes, constitui achados cirúrgicos inesperados, podendo haver um ou vários tumores. Há excessiva neoformação conjuntiva hiperplástica, devido à resposta anômala aos elementos esquistossomóticos ou somente um conglomerado de ovos e granulomas (Bogliolo, 1981). É freqüente os pacientes apresentarem eosinofilia e aumento das globulinas. Muitos pacientes são portadores de forma hepatoesplênica, mas a forma tumoral ocorre também em hepatointestinais. Freqüentemente respondem ao tratamento específico, associado aos corticosteróides. As lesões podem apresentar regressão, muitas vezes somente parcial, embora possa haver seqüelas de estenoses cicatriciais. Situam-se com maior freqüência no intestino ou peritônio. No intestino, em 26 casos (Raso & Bogliolo, 1970), acometeu o cólon descendente e sigmóide (50%), o íleo terminal (19%), o retroperitôneo (19%), o intestino delgado (8%) e o jejuno (4%). Os pacientes podem apresentar distúrbios de trânsito intestinal e, se o tumor crescer para a luz intestinal, pode chegar à oclusão. Se o crescimento do tumor se der a partir da serosa, pode haver aumento considerável do seu volume, comprimindo órgãos. A tumoração pode ter limites imprecisos, aderindo à parede e penetrando no meso correspondente (Raso,

2000). Se expandir para o retroperitônio, cresce de modo irregular, englobando alças do intestino delgado. À palpação, o intestino pode se apresentar endurecido. No Egito, são freqüentes as massas abdominais nos epíplons, mesentérios e gânglios e nas subserosas pericolônicas, comumente associadas aos pólipos, dedos em baqueta de tambor e disenteria.

O tumor pode se localizar fora do aparelho digestivo, como, por exemplo, no pulmão (Fatureto et al., 2003), nos aparelhos genitais feminino (Santos, 1971; Chaves et al., 1972; Coelho, 1979; Silva, Cassemiro & Miranda, 1984) ou masculino (Mitre et al., 1980; Bambirra et al., 1986), na mama (Lima et al., 2004; Sloan et al., 1996), no sistema nervoso (Bambirra et al., 1984; Ferreira et al., 1998) e mesmo em outros órgãos como fígado (Fraga & Reifur, 1971), faringe (Stump, 1983) e bexiga (Mitre et al., 1980).

Neuroesquistossomose

A palavra neuroesquistossomose compreende o comprometimento do sistema nervoso pelos esquistossomas, produzindo ou não sintomatologia. Das formas anatomoclínicas ectópicas, é a mais freqüente e a mais severa da doença (Nobre et al., 2001; Silva et al., 2004). Contudo, embora ainda não se conheça a freqüência do envolvimento neurológico na esquistossomose, esta forma é tida como a maior causa de mielite não traumática em áreas endêmicas do Brasil.

Acredita-se que a neuroesquistossomose deva ser muito mais freqüente do que se pensa, tendo-se em vista o grande número de casos descritos por alguns autores em curto período de observação (Ferrari, 2004). Suspeita-se que os casos diagnosticados sejam somente uma parcela pequena em relação à quantidade de pacientes existentes. A mielorradiculopatia esquistossomótica tem sido evidenciada geralmente em ambiente hospitalar (Nobre et al., 2001; Silva et al., 2004), mas há necessidade de estudá-la em áreas endêmicas para se conhecer as formas frustras (Fowler, Lee & Keystone, 1999; Moreno-Carvalho et al., 2003). O mesmo sucede em relação à localização encefálica, devido à elevada freqüência de ovos em material de necropsias, sendo de 100% em dez casos de Queirós (1974) e 26% em 46 casos de Pitella (apud Ferreira et al., 1998). Ao contrário do que vem ocorrendo com as outras formas clínicas da esquistossomose, consideradas graves, a freqüência dos diagnósticos de neuroesquistossomose vem aumentando. Para alguns autores, como Lambertucci (comunicação pessoal), o aumento de casos seria relativo, pois até então estariam passando desapercebidos. A matéria requer esclarecimentos, mas de qualquer modo justificaria a revisão do atual conceito de morbidade na avaliação da importância da doença.

Os fatores que contribuem para o acometimento neurológico e a extensão das suas seqüelas não são bem conhecidos. Embora se saiba que pode ser atingida qualquer parte do sistema nervoso central, geralmente se consideram dois tipos de neuroesquistossomose: o encefálico e a mielorradiculopatia. O encefálico é mais freqüente na esquistossomose japônica e o medular, na mansoni. Podem ter evolução variável, inclusive frustra oligossintomática ou transitória. Todas as faixas etárias são susceptíveis de apresentarem a forma neurológica, a qual tem sido diagnosticada em crianças, adolescentes e adultos (Paz et al., 2002; Moreno-Carvalho et al., 2003). As manifestações são extremamente variáveis: crises convulsivas, tonturas, cefaléia, sinais meníngeos, cerebelares, síndrome de hipertensão intracraniana, *deficits* neurológicos, transtornos visuais, *deficit* cognitivo, distúrbio de comportamento e sinais e sintomas de comprometimento mielomeningorradicular. São freqüentes a perda de força, dores radiculares, *deficit* sensitivo, distúrbio esfincteriano e alterações dos reflexos. A paraplegia é de instalação rápida. Há aumento

de células e de proteínas no líquor. O diagnóstico de certeza é feito pelo encontro de ovos em material de biópsia. Os achados de necropsia são três a quatro vezes mais freqüentes do que os casos diagnosticados em vida, mostrando as dificuldades do diagnóstico e o desconhecimento desta modalidade clínica.

O comprometimento neurológico ocorre pela presença de ovos que causam reações locais, granulomas, endarterites, tromboses (Pittella, 1985) ou por liberação de proteínas que, uma vez disseminadas pelo líquido cefalorraquidiano, podem causar desmielinização ou degeneração axonal a distância (Ferreira et al., 1998). A presença de vermes adultos é bem rara (Bambirra et al., 1984).

Os elementos esquistossomóticos podem chegar ao sistema nervoso pelas conexões nervosas do sistema portal com as veias medulares ou cerebrais ou pela circulação arterial através de fístulas arteriovenosas pulmonares ou anastomoses portopulmonares.

Na forma cerebral há manifestações do aumento da pressão intracraniana, como cefaléia, convulsões, edema da papila, distúrbios visuais e da fala, hemiparesias, ataxia. A forma medular geralmente se inicia com dor lombar e nos membros inferiores, fraqueza muscular, distúrbios sensoriais e esfincterianos de evolução e intensidade variáveis. A fraqueza muscular se sobressai no quadro clínico, freqüentemente impedindo a deambulação. São freqüentes as alterações dos reflexos osteotendinosos e a impotência sexual. Ocorrem principalmente em indivíduos jovens, com idade média de 25 anos, geralmente do sexo masculino, na proporção de 8:1 (Silva et al., 2003), com antecedentes de esquistossomose mas não portadores da forma hepatoesplênica. Nos hepatoesplênicos há maior passagem de ovos para o sistema nervoso central, mas a neuroesquistossomose é mais freqüente em hepatointestinais (Ferrari, 2004) e nos poucos casos registrados de portadores de baixa carga parasitária.

O tratamento é simples e eficaz. Sendo realizado precocemente, evita seqüelas neurológicas e até a morte por infecções crônicas (Silva et al., 2004).

Nefropatia Esquistossomótica

O comprometimento renal na esquistossomose, principalmente na forma hepatoesplênica, foi evidenciado, inicialmente, pelo exame de urina (proteinúria, cilindrúria e hematúria) e pela histopatologia (espessamentos da membrana basal dos glomérulos e lesões do epitélio tubular) (Lopes, 1964) e posteriormente confirmado pelas necropsias (Lima, Brito & Rocha, 1969; Andrade & Queiroz, 1968). Entre 12%-15% dos hepatoesplênicos apresentam glomerulopatia (Andrade & Rocha, 1979), caracterizada mais freqüentemente como glomerulonefrite membranoproliferativa ou esclerose glomerular, ainda que qualquer tipo de glomerulonefrite possa ser encontrado. É a forma anatomoclínica da esquistossomose com melhor reprodução experimental. Ademais, há amplas implicações imunológicas (Rocha, 1984). A nefropatia resultaria da deposição de complexos imunes, resultantes de antígenos circulantes derivados dos vermes (Andrade & Rocha, 1979), representados por polissacarídeos de alto peso molecular provenientes do tubo digestivo de *S. mansoni* (Nash, 1974). Estes antígenos, não sendo inativados pelo fígado, ganham a circulação geral ultrapassando a barreira hepática ou pela circulação colateral. No soro foram assinalados anticorpos para as várias frações antigênicas (Houba et al., 1976), em títulos mais elevados em hepatoesplênicos com nefropatia associada (Brito et al., 1979). Contudo, a presença de nefropatia esquistossomótica em pacientes hepatointestinais demonstra que não há necessidade da existência de circulação colateral para explicar a lesão renal (Abensur et al., 1992), podendo esta talvez resultar de

simples saturação do sistema reticuloendotelial devido à contínua produção de antígenos, que resultaria no aumento de carga antigênica para os rins.

Um estudo em área endêmica mostrou a presença de proteinúria em 24,7% de 89 pacientes com a forma hepatoesplênica e em apenas 4,6% de 86 hepatointestinais (Bina et al., 1985). De nove destes indivíduos com proteinúria acima de 30 mg/100 ml, oito eram portadores da forma hepatoesplênica. A proteinúria, nesse estudo, não mostrou relação com a carga parasitária.

Com o declínio do número de hepatoesplênicos também tem reduzido o dos pacientes com nefropatia, na mesma proporção (Correia, Martinelli & Rocha, 1997), guardando a mesma prevalência de 12% entre os hepatoesplênicos.

Do ponto de vista clínico a instalação da sintomatologia se faz habitualmente de modo lento. A apresentação mais freqüente da nefropatia é a síndrome nefrótica (Rocha et al., 1976). Aparecem edemas dos membros inferiores, e às vezes hipertensão arterial; ao exame de urina, proteinúria, que habitualmente antecede as manifestações clínicas, hematúria e cilindrúria. No sangue, há baixa de albumina, aumento de globulinas, colesterol habitualmente normal e, a depender da evolução da doença, elevação da uréia e da creatinina.

Instalada a síndrome nefrótica, a doença evolui para a insuficiência renal crônica, em média, entre três e cinco anos.

O tratamento específico ou com corticosteróides ou com imunossupressores não influi na evolução da doença.

Forma Panvisceral

Em algumas vezes, na chamada forma panvisceral, quase todas as formas graves são encontradas no mesmo paciente. Em certos casos, às vezes com infantilismo, podem-se observar, juntas, hipertensão porta, hipertensão pulmonar, glomerulopatia e manifestações pseudoneoplásicas.

Enterobacteriose Septicêmica Prolongada

Observações clínicas na década de 1950 (Ferreira, 1954; Teixeira, 1959; Tai et al., 1955) mostraram que as salmonelas podiam apresentar quadro clínico e evolução diferentes quando acometiam pacientes com esquistossomose. A evolução podia levar vários meses e o quadro clínico se assemelhar ao do calazar. A analogia das lesões da febre tifóide com as do calazar foi acentuada por Meleney (1925) quando disse que o calazar seria uma febre tifóide prolongada. Depois que Teixeira (1959) descreveu e individualizou a febre tifóide prolongada, a nova entidade nosológica passou a ser amplamente referida. Ultimamente sua freqüência reduziu-se drasticamente, o que se pode atribuir a várias causas, como diminuição de pacientes com a forma hepatoesplênica da doença, uso disseminado do tratamento antiesquistossomótico e melhoria das condições sanitárias nas áreas rurais donde sempre provieram os pacientes infectados. Mais de vinte espécies de salmonelas, de origem humana ou animal, têm sido encontradas associadas aos esquistossomas. Daí a entidade passar a ser denominada salmonelose septicêmica prolongada (Neves & Martins, 1967) e posteriormente enterobacteriose septicêmica prolongada, após o isolamento de *Escherichia coli* de pacientes esquistossomóticos com septicemia prolongada (Teixeira et al., 1972). No relacionamento das salmonelas com o esquistossoma pode-se verificar, experimentalmente,

que o verme exerce um papel de reservatório das bactérias. Estas têm sido encontradas se multiplicando no intestino dos esquistossomas (Ottens & Dickerson, 1969) ou, como ocorreu com vermes extraídos por filtração extracorpórea de sangue, aderidas a sua superfície (Young et al., 1973). As salmonelas foram encontradas principalmente no tegumento de vermes machos, emitindo fímbrias. Nestes locais, podem permanecer abrigadas por mais de um ano, sendo compreensível que, nestas circunstâncias, as infecções podem se prolongar e recrudescer (Rocha, Oliveira & Oliveira, 1980). As liberações de salmonelas do tegumento ou através das regurgitações periódicas dos vermes são fontes que alimentam continuamente a bacteremia. O desenvolvimento de antígenos semelhantes entre a salmonela e o tegumento dos vermes e a baixa de imunidade celular nos pacientes hepatoesplênicos são fatores capazes de influenciar na etiopatogênia da enterobiose septicêmica prolongada.

Esta associação de verme e bactéria produz um quadro clínico caracterizado, principalmente, por esplenomegalia, hepatomegalia, febre de longa duração, diarréia, emagrecimento, dores abdominais e palidez. Edemas e petéquias nos membros inferiores, adenomegalia, calafrios, epistaxe, sudorese, sangue nas fezes e dispnéia foram encontrados em mais de 50% de cem pacientes referidos por Teixeira (1996). Contrastando com o que ocorre nas salmoneloses septicêmicas, nestas associadas com a esquistossomose não há alterações sensoriais e nem manifestações toxêmicas. Aliás, a injeção endovenosa de *Salmonella typhi* mortas em pacientes egípcios com salmonelose septicêmica prolongada não produziu febre nem outras manifestações sistêmicas (Lehman & Bassily, 1971). Ademais, chamam atenção a semelhança do quadro clínico, independente da espécie de salmonela, mesmo as de origem animal, e a ausência de complicações graves, como seria de se esperar em infecções por germens Gram negativos. Aos exames de laboratório, observam-se hipergamaglobulinemia, eosinofilia e, freqüentemente, leucocitose e neutrofilia moderadas (Teixeira, 1960, 1984). Em alguns pacientes com salmonelose septicêmica prolongada se desenvolve uma infecção urinária que pode levar à síndrome nefrótica, com alterações do ritmo e do volume urinário, edemas, proteinúria maciça, hipoalbuminemia, difícil de ser distinguida da nefropatia esquistossomótica e que, ao contrário desta, pode regredir com o tratamento.

A enterobacteriose septicêmica prolongada tem evolução crônica e baixa mortalidade. Cura, com o tratamento específico da esquistossomose ou da bactéria associada, inclusive a nefropatia (Lambertucci et al., 1988).

Outras Associações Mórbidas

A associação da esquistossomose com a hepatite por vírus começou a ser constatada no início da década de 1970 (Lyra, 1975; Guimarães, 1973). Durante muitos anos tem sido motivo de controvérsia. Nas áreas endêmicas, estudos bem controlados não mostraram a mesma associação verificada nos hospitais, tanto em relação ao vírus B (Tavares-Neto, 1997; Serufo, 1997), como também quanto ao vírus C (Tavares-Neto, 1997). O tratamento cirúrgico, a terapia parenteral, as transfusões de sangue ou hemoderivados poderiam facilitar a co-infecção, além das alterações do sistema imunitário causadas por *S. mansoni* (Serufo & Lambertucci, 1997). Neste sentido, a alteração da resposta imune, em alguns esquistossomóticos, à vacinação contra a hepatite B tem sido apontada como conseqüência da infecção por *S. mansoni* (Bassily et al., 1987). Esta resposta à vacinação poderia variar conforme o tipo de vacina usada (Chen et al., 1993). Os hepatoesplênicos (Lyra, Rebouças & Andrade, 1976) e os pacientes com fibrose hepática

(Hammad et al., 1990) têm maior prevalência de AgHBs. Os pacientes com a associação apresentam maior freqüência de angiomas estelares, icterícia e aminotransferases elevadas. Neles é mais freqüente encontrar-se hepatite crônica ativa, o que agrava a evolução da hipertensão porta e facilita a descompensação dos hepatoesplênicos.

O linfoma folicular gigante do baço tem sido encontrado em esquistossomóticos hepatoesplênicos (Andrade & Abreu, 1971; Andrade et al., 1982; Paes & Marigo, 1981; Gomes et al., 1984).

Teixeira et al. (2001) acentuaram a alta prevalência de abscesso hepático em pacientes esquistossomóticos, em 92% dos quais se isolou *Staphylococcus aureus*, sugerindo afinidade desta bactéria com componentes do colágeno, na formação dos granulomas.

A co-infecção de *S. mansoni* com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) pode influenciar vários aspectos de cada infecção, como vem sendo demonstrado. Em relação à esquistossomose, pacientes com a mesma carga parasitária eliminam menos ovos por grama de fezes quando também infectados pelo HIV e têm diminuição de linfócitos CD4+ (Karanja et al., 1997), confirmando dados que sugerem, experimentalmente, a importância dos linfócitos CD4+ na excreção dos ovos de *S. mansoni* (Doenhoff et al., 1981). Ao contrário do que indicavam dados experimentais, os pacientes infectados com HIV respondem adequadamente ao tratamento com praziquantel (Karanja et al., 1998). A suscetibilidade às reinfecções por *S. mansoni* é maior em indivíduos infectados pelo HIV e com redução de linfócitos CD4+ (Karanja et al., 2002). Em um caso de Aids e esquistossomose a necropsia mostrou vermes no cólon, pulmões e próstata e ausência de ovos e granulomas (Turcato Jr. et al., 1987).

DIAGNÓSTICO CLÍNICO E DIFERENCIAL

Fase Inicial

A fase inicial da esquistossomose nas áreas hiperendêmicas, que ocorre na primeira infância, passa desapercebida, por ser assintomática e não desenvolver eosinofilia apreciável.

Na esquistossomose aguda geralmente são a febre, as dores abdominais, a diarréia e a indisposição que levam os pacientes a procurar o médico. Um leucograma com eosinofilia acentuada desperta a atenção para o diagnóstico de uma helmintose que, antes do resultado do exame de fezes, se supõe ser a esquistossomose ou a ancilostomose agudas e, menos freqüentemente, a estrongiloidíase. Na ancilostomose, o prurido cutâneo é mais marcante; falam a favor do diagnóstico da esquistossomose a febre e a hepatoesplenomegalia. É importante o relato de banhos em águas suspeitas, um ou dois meses antes, principalmente em se tratando de pessoas jovens e que não vivem em permanente contato com focos de infecções em áreas endêmicas. O aparecimento de sintomatologia semelhante em companheiros que se banharam nas mesmas águas robustece o diagnóstico. Deve-se procurar, sempre, a confirmação pelo encontro de ovos nas fezes, que podem aparecer a partir do quadragésimo dia de infecção.

O quadro clínico da forma toxêmica se assemelha ao de uma doença infecciosa aguda, como febre tifóide, brucelose, mononucleose infecciosa ou tuberculose miliar, e destas deve ser diferenciado.

Esquistossomose Crônica

Na esquistossomose crônica a sintomatologia pode não existir ou ser muito variável. É freqüente se confundir com a sintomatologia da amebíase, da estrongiloidíase, da giardíase e das demais parasitoses

ou outras afecções do aparelho digestivo. Naturalmente, também aqui têm importância a procedência do doente e a referência a banhos de rio e lagoas. Todavia, esses dados carecem de muito valor nas áreas endêmicas, onde todos os indivíduos, em alguma época da vida, entram em contato com águas suspeitas. O diagnóstico deve ser confirmado pelo exame de fezes. Se a quantidade de ovos nas fezes for pequena, o exame de fezes deve ser repetido até cinco ou seis vezes. No caso dos exames de fezes continuarem negativos e for grande a suspeita de esquistossomose, pode-se procurar os ovos em material de biópsia do reto e, se houver possibilidade, se fazer sorologia (reação periovular) ou, por fim, se tentar a prova terapêutica com dose única de oxamniquina.

Estabelecido o diagnóstico parasitológico, deve-se examinar o fígado e o baço para ver se a forma clínica é a hepatointestinal ou a hepatoesplênica. E, no caso de ser a hepatointestinal, ver se há lesões hepáticas avançadas.

A forma hepatointestinal é suspeitada quando o fígado se mostra ou duro e/ou nodular (Figuras 6 e 7) e/ou tem o lobo esquerdo proeminente e o baço não atinge o rebordo costal na inspiração normal. Embora tais achados hepáticos sejam marcadores de fibrose de Symmers, sua ausência não afasta a possibilidade do diagnóstico de fibrose periportal. O diagnóstico diferencial da forma hepatointestinal com lesões hepáticas avançadas precisa ser feito, principalmente, com malária, hepatite, cirrose hepática e esteatose.

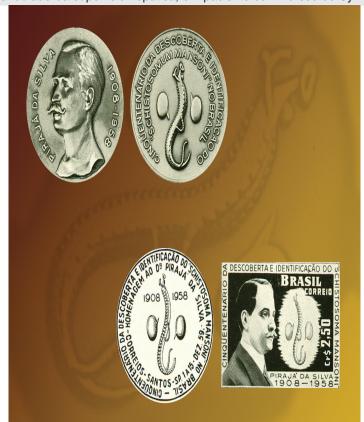



Figura 6 – Aspecto ondulado da superfície hepática, em paciente com fibrose de Symmers

Figura 7 – Fígado com superfície nodular em paciente com fibrose de Symmers

'Fala a favor' do diagnóstico de esquistossomose o fato de o doente não ter idade inferior a cinco anos e apresentar bom estado geral, não ser obeso, a ausência de antecedentes de febre e icterícia, o fígado ser indolor à palpação, a existência de características persistentes e semelhantes em irmãos e exames de fezes positivo.

O diagnóstico de certeza é obtido pela ultra-sonografia (Figura 8), ou pela ressonância magnética (Figura 9), que revelam espessamento dos espaços porta e geralmente ausência ou discreta presença de sinais de hipertensão porta (aumento de calibre, sinuosidades ou circulação colateral no sistema da veia porta), embora raramente possa haver sinais mais acentuados de hipertensão porta.

Figura 8 – Ultra-sonografia apresentando espessamento periportal em paciente esquistossomótico

Figura 9 – Imagem de ressonância magnética da fibrose periportal

Fonte: Lambertucci (2001).

Em áreas endêmicas, muitos casos são revelados em exames de rotina, pela ultra-sonografia, sem haver sequer suspeita clínica. No entanto, em inquéritos em áreas endêmicas os achados de discreto espessamento periportal ao exame ultra-sonográfico às vezes são de interpretação questionável.

As lesões intestinais avançadas na esquistossomose podem ser diagnosticadas pela clínica, como a colite esquistossomótica, quando são freqüentes as crises diarréicas, com dores no trajeto do colo, sobretudo no descendente, ou o espessamento das paredes do sigmóide (corda cólica) (Rodrigues da Silva, 1949). Outras vezes o diagnóstico é histopatológico, como a apendicite ou os pólipos.

A esquistossomose hepatoesplênica compensada será diagnosticada pela presença de fígado duro à palpação, nodular ou com lobo esquerdo proeminente e baço geralmente endurecido, atingindo o rebordo costal ou abaixo do mesmo e estado geral relativamente bom, massa muscular conservada e ausência de circulação colateral superficial e de manifestações graves de insuficiência hepática. A descompensação está associada a ascite, edemas, anemia e sinais de insuficiência hepática. Os hepatoesplênicos têm hipertensão porta que pode produzir hemorragia digestiva e ser evidenciada pela presença de varizes no esôfago, pela ultra-sonografia ou pela ressonância magnética. O simples encontro de ovos de *Schistosoma* nas fezes, embora seja elemento de real valor, não é decisivo no diagnóstico diferencial, em face da freqüência do achado, pelo menos nas áreas endêmicas. Do mesmo modo, o exame de fezes negativo não invalida o diagnóstico, pois ainda que a atividade parasitária esteja extinta podem persistir durante anos as lesões que configuram a forma clínica. A hipertensão porta esquistossomótica ainda não foi assinalada em pessoas com menos de seis anos de idade; a maioria das pessoas que procuram os hospitais geralmente estão no grupo etário de 15 a 35 anos.

A esquistossomose hepatoesplênica necessita ser distinguida de muitas entidades que podem evoluir com quadro clínico semelhante, como calazar, leucemia, linfoma, malária hiper-reacional, cirrose de Laennec e cirrose pós-necrótica e enterobacteriose septicêmica prolongada.

Para a diferenciação do calazar são elementos favoráveis ao diagnóstico: raridade da hipertensão porta, exceto se houver a fibrose de Roger; fígado volumoso, não endurecido e sem nódulos; febre elevada e prolongada; mielograma e biópsia hepática característicos; acentuada hipergamaglobulinemia; reação de formolgel positiva imediata; reação de Tral-d, imunofluorescência e Elisa positivas; e presença de leishmânia na medula óssea, no baço ou no fígado.

Na leucemia, o leucograma e o mielograma são de valor decisivo. Certas formas de linfoma oferecem dificuldades diagnósticas que são resolvidas com auxílio de mielograma, biópsias, aparecimento de adenopatias ou pela evolução da doença. Na esplenomegalia tropical, há antecedentes de episódios repetidos de malária, títulos altos de anticorpos do tipo IgM e biópsia hepática com infiltrados de células mononucleadas nos sinusóides. Nessas três entidades mórbidas não há hipertensão porta e nem fígado nodular.

A cirrose pós-necrótica e a cirrose de Laennec, principalmente em fase avançada, podem ser confundidas com a esquistossomose pela hipertensão porta e por características da palpação do fígado e do baço. Nas primeiras, os doentes são mais idosos; são mais freqüentes edemas, ascite, icterícia, angioma estelar, eritema palmar, circulação colateral superficial; o estado geral está mais comprometido; a hipoalbuminemia, mais acentuada; provas de função hepática, mais comprometidas; há diminuição da tolerância à amônia; a biópsia hepática pode ajudar o diagnóstico da cirrose de Laennec. Em resumo, pode-se dizer que, nestas doenças, predomina a insuficiência hepática parenquimatosa e, na esquistossomose, a hipertensão porta. O diagnóstico de certeza é dado pela fibrose de Symmers, evidenciada pela ultra-sonografia ou pela ressonância magnética.

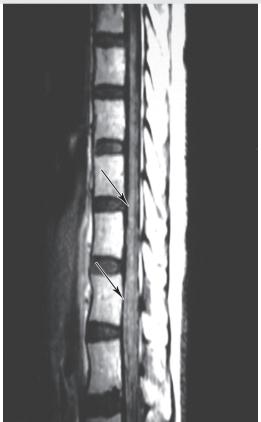
Como a enterobacteriose septicêmica prolongada acomete na maioria das vezes os esquistossomóticos portadores da forma hepatoesplênica, nela também pode ser encontrada a fibrose de Symmers. O quadro clínico da enterobacteriose septicêmica prolongada é muito semelhante ao do calazar. Mesmo a palpação do fígado se assemelha mais ao calazar. Na enterobacteriose destaca-se a febre e a hemocultura é positiva; e, se a bactéria for *Salmonella typhi* ou *paratyphi*, a reação de Widal é positiva.

A hipertensão pulmonar esquistossomótica deve ser dissociada das doenças que produzem a mesma síndrome. Clinicamente, ela pode ser indistinguível da hipertensão pulmonar primária. A concomitância de hipertensão porta 'fala a favor' da etiologia esquistossomótica. A síndrome cianótica e os dedos em baqueta de tambor também são vistos em pacientes com hipertensão porta e, muitas vezes, após esplenectomia.

As formas pseudoneoplásicas, exceto na neuroesquistossomose, quase sempre necessitam de comprovação histopatológica. O diagnóstico etiológico é importante durante procedimentos cirúrgicos, para evitar ressecções desnecessárias.

Se o esquistossomótico apresenta proteinúria, edema dos membros inferiores e principalmente síndrome nefrótica, pode ser que a nefropatia esteja relacionada à esquistossomose, sendo a suspeita maior no caso de o mesmo ser portador da forma hepatoesplênica da doença. O diagnóstico é confirmado pela biópsia renal e pela verificação do depósito de complexos imunes nos glomérulos, o que na prática habitualmente não se faz, não somente na esquistossomose mas, também, em outras situações sugestivas de glomerulonofrite parasitária (Rocha, 1984).

Muito importante é o diagnóstico da neuroesquistossomose, pelas dificuldades de sua confirmação e pelo significado desta forma clínica. O diagnóstico provável pode ser feito por clínica, epidemiologia e exames complementares sugestivos. Entre estes, incluem-se a mielografia, a mielotomografia computadorizada, a ultra-sonografia e a ressonância magnética (Figura 10), embora não específicos (Goffete et al., 1998).

Figura 10 – Alongamento do cone medular e captação de contraste heterogênea e difusa, com aspecto granular (setas) em medula torácica baixa e cone medular, em paciente com mielorradiculopatia esquistossomótica

Fonte: Silva (2004).

Santos et al. (2001) sugeriram que, havendo comprometimento medular toráxico baixo ou lombossacral e antecedentes epidemiológicos, o diagnóstico é possível. Se, além disto, o exame de fezes ou a biópsia de reto resultarem positivos para ovos de *S. mansoni* e forem excluídas outras patologias, o diagnóstico é provável. O diagnóstico é confirmado pela biópsia da lesão.

Livramento, Machado & Spina-França (1986) acentuaram que no líquido cefalorraquiano há hipercitose linfomononuclear e eosinofilia, aumento de proteínas e de gamaglobulinas e anticorpos específicos contra *S. mansoni*.

Instalação, Evolução e Involução das Formas Anatomoclínicas

Os estudos longitudinais em áreas endêmicas, a partir do fim da década de 1950, trouxeram alguns esclarecimentos sobre a evolução das formas clínicas, especialmente em relação à hepatoesplenomegalia no Brasil. Katz & Brener (1966), estudando a evolução clínica de 112 casos de esquistossomose diagnosticados por Brener & Mourão (1956) e observados após dez anos de permanência em focos endêmicos de Minas Gerais, chegaram à conclusão de que alguns evoluíram para a forma hepatoesplênica e outros mudaram da hepatoesplênica para a intestinal ou hepatointestinal.

Klöetzel & Klöetzel (1958) observaram 119 pacientes com a forma hepatoesplênica em Gameleira, Pernambuco, e fizeram considerações sobre a incidência familiar dessa forma, estudando posteriormente as relações das formas graves com a carga parasitária (Klöetzel, 1962a, 1963b), a história natural, o prognóstico da esplenomegalia (Klöetzel, 1964, 1967) e a evolução benéfica dos casos submetidos ao tratamento quimioterápico precoce (Klöetzel, 1972).

Ainda em Pernambuco, Barbosa (1966) observou a evolução da doença, durante sete anos, em quatro localidades com diferentes características, verificando que em Pontezinha, onde empregou saneamento e educação sanitária, houve redução da infecção em relação às outras áreas, enquanto, em Água Preta, Barbosa & Voss (1969) demonstraram que 20% dos casos passaram para a forma hepatoesplênica, naquele período.

Conceição & Coura (1980), em um estudo evolutivo inicialmente no período de seis anos e, depois, de dez anos (Coura, Conceição & Pereira, 1984), na área de Capitão Andrade, Minas Gerais, demonstraram que houve grande dinâmica na evolução da doença, tanto progressiva como regressiva. O agravamento resultou em 12,1% de novas formas hepatoesplênicas nos dez anos, sendo o aumento mais acentuado entre os indivíduos de seis a trinta anos. No referido período, sem que houvesse qualquer intervenção e apenas 7% da população informando tratamento com medicação específica, por iniciativa própria, houve importante redução na prevalência da infecção, na área estudada, de 60,8% para 36,2% (24,6% de redução), e redução de carga parasitária em mais de 50% sem que se alterassem, substancialmente, a proporção das formas clínicas e a relação direta entre a carga parasitária remanescente e a gravidade das formas clínicas.

Ainda em Minas Gerais, Costa et al. (1984) demonstraram, na cidade de Comercinho, em um estudo evolutivo de sete anos, uma expressiva redução do número de ovos de *S. mansoni* nas fezes e do índice de esplenomegalia no centro da cidade, onde houve expansão da rede de água encanada, enquanto na periferia da cidade, onde este fato não ocorreu, tanto a contagem de ovos como o índice de esplenomegalia permaneceram estáveis.

Bina (1977) demonstrou claramente que o tratamento específico, como já havia sido aventado por Klöetzel (1963a, 1972), era capaz de prevenir a evolução da doença para as formas mais graves, fato também comprovado por Santos (1978), em curto período, e por outros (Santos & Coura, 1986; Katz et al., 1978).

Bina & Prata (1983) trataram 23 esquistossomóticos hepatoesplênicos, após dois a quatro anos do tratamento e ainda vivendo na área endêmica de Caatinga do Moura; embora todos continuassem eliminando ovos pelas fezes, houve melhora em 18 (78,3%), tendo 12 (52%) revertidos à forma hepatointestinal. Outros setenta pacientes com a forma hepatoesplênica foram tratados e apresentaram resultados semelhantes (Dietze & Prata, 1986). O mesmo sucedeu com outros pesquisadores (Domingues & Coutinho, 1990; Richter, 2003; Coura et al., 1992; Lambertucci et al., 2000). Desde a década de 1990, um dos objetivos do Programa de Controle da Esquistossomose no Brasil é o controle da morbidade, pelo tratamento de populações em áreas endêmicas (Silveira, 1989), e a OMS (WHO, 1985) passou a considerar que esta deve ser a principal finalidade do controle da doença.

Quando a fase inicial da esquistossomose é assintomática, a doença evolui imperceptivelmente para a fase crônica, com a forma hepatointestinal. Se há manifestações da fase aguda a infecção caminha habitualmente para a cronicidade (forma hepatointestinal), em geral num período de dois a três meses. Excepcionalmente essa fase pode apresentar forma clínica muito grave, inclusive ocorrendo casos fatais com extensa disseminação pulmonar dos ovos, caracterizando uma forma mista de 'pneumonite intersticial'

com disseminação miliar e até mesmo a evolução para o *cor pulmonale* a curto prazo ou com icterícia, coma e morte. Há registro de um caso que, em 130 dias, evoluiu da fase aguda para a forma hepatoesplênica (Neves & Raso, 1965).

A grande maioria dos pacientes com a forma hepatointestinal não apresenta evolução da doença para formas mais graves, mesmo nas áreas endêmicas. Isto é a regra quando eles se afastam das áreas endêmicas, ainda que continuem infectados (Coura et al., 1974).

Mesmo continuando com a forma hepatointestinal, em alguns indivíduos é possível identificar a intensificação das alterações intestinais (colite, pólipos) ou hepáticas (fibrose periportal). As lesões hepáticas avançadas, caracterizadas principalmente pelo espessamento periportal, têm sido encontradas em muitos pacientes, em áreas endêmicas, por meio de ultra-sonografia. Falta ainda se conhecer melhor o potencial evolutivo e o prognóstico destes pacientes hepatointestinais, mas portadores de lesões hepáticas avançadas (Klöetzel, 1963). Em alguns casos, tais lesões podem ser evolutivas (Prata & Bina, 1968); em outros, involutivas (Dietze & Prata, 1986); e, provavelmente em outros, estacionárias.

Devido à importância da forma hepatoesplênica, deve-se pormenorizar como se processa sua instalação, a respeito da qual há muitas informações disponíveis.

Geralmente é a partir da forma hepatointestinal, após cerca de 5-15 anos da infecção inicial, que a doença evolui para a forma hepatoesplênica. O modo como habitualmente se processa esta evolução pôde ser estudado em vinte pacientes em Caatinga do Moura (Prata & Bina, 1968), quando ainda havia dúvidas de se fazer tratamento específico nos doentes em área endêmica. Como atualmente é difícil obter novas informações a este respeito, vale a pena resumir os resultados daquela observação. Em exame antes de se iniciar a evolução para a forma hepatoesplênica, a idade dos pacientes variava de seis a 28 anos, o número de ovos de *S. mansoni* por grama de fezes (método de Stoll) era de cem ovos em seis, de duzentos em quatro, de trezentos a quinhentos em quatro, de oitocentos a novecentos em dois e de mil a 1.100 em três. O leucograma foi feito em sete pacientes e oscilava de 6.700 a 14 mil leucócitos por mm^3, com eosinofilia de 6% a 25% em seis e linfocitose de 37% a 45% em cinco. Ao exame físico, o lobo direito do fígado era impalpável em dois doentes, palpável na inspiração profunda em 11, no rebordo costal em três e de 2-5 cm abaixo do rebordo em quatro; o lobo esquerdo era impalpável em cinco, palpável na inspiração profunda em seis, ao nível do apêndice xifóide em três e de 2-10 cm abaixo do apêndice xifóide em seis. A consistência do fígado era flácida em quatro, firme em nove e dura em cinco; não se constataram nódulos em nenhum. O baço era impalpável em 14, palpável na inspiração profunda, em cinco e no rebordo costal, em um. Sem causa aparente, estes doentes começaram a desenvolver a forma hepatoesplênica. O aumento do baço e o endurecimento e aumento do fígado, principalmente do lobo esquerdo, caracterizaram o início da evolução da doença para a forma hepatoesplênica A transformação da forma hepatointestinal para a hepatoesplênica se completou em menos de três anos em cinco doentes, em cerca de quatro anos em nove e em mais de quatro anos em seis. O aumento e endurecimento do fígado e o início da esplenomegalia foram percebidos simultaneamente em 14 pacientes e as alterações hepáticas precederam as esplênicas em seis. Instalada a hepatoesplenomegalia, o lobo esquerdo era proeminente em 15 pacientes e os nódulos do fígado foram palpados em 14 deles. Dos vinte hepatoesplênicos, 12 foram esplenectomizados. Em todos os 12 o número de leucócitos era menor do que na contagem inicial, mas somente em quatro era inferior a cinco mil por mm^3. A pressão do sangue portal era de 13 a 32 mm

(bem acima do normal, 5-10 mm Hg). O número de vermes removidos por filtração extracorpórea do sangue portal variou de 270 a 3.890. O peso do baço variou de 260 g a 860 g. Ao exame histopatológico havia fibrose de Symmers em todos. No baço, a hiperplasia predominava sobre a congestão nos casos em que a instalação da esplenomegalia era mais recente.

Alguns fatores parecem ser fundamentais para a instalação e evolução da forma hepatoesplênica da esquistossomose, como:

- número de ovos de *S. mansoni* que são retidos no sistema porta intra-hepático e os antígenos por eles liberados;
- as reinfecções;
- influência genética;
- resposta imune do hospedeiro com a formação de granulomas e fibrose periportal (fibrose de Symmers) e seus fatores moduladores;
- associação com possíveis fatores agravantes, entre os quais o alcoolismo, a desnutrição e as hepatites, particularmente B e C, que comprometem diretamente o parênquima hepático.

O número de ovos retidos no sistema porta depende basicamente da carga parasitária. A carga parasitária no homem pode ser avaliada pela contagem dos vermes *post-mortem* (Cheever, 1968) ou pela remoção extracorpórea do sangue porta (Goldsmith et al., 1967), pela determinação dos antígenos circulantes no plasma (Santoro et al., 1980; Galvão-Castro et al., 1981) ou excretados na urina (Carlier et al., 1975) e pela contagem de ovos nas fezes. Somente este último método tem sido utilizado na prática. Embora a relação entre a quantidade de ovos eliminados nas fezes e a carga parasitária seja matéria controvertida, pelas discrepâncias individuais (Chen & Mott, 1988), a contagem de ovos nas fezes é a única maneira prática de se avaliar a carga parasitária e, para fins epidemiológicos, tem sido muito usada e é de grande utilidade na esquistossomose (Scott, 1942). A forma hepatoesplênica é mais encontrada em áreas com maior prevalência da doença (Pessoa & Barros, 1953; Klöetzel, 1963a) e maior eliminação de ovos pela população (Costa, 1983; Klöetzel, 1962a, 1962b), e geralmente aparece nas idades em que os indivíduos eliminam maior quantidade de ovos pelas fezes. Contudo, os autores não são unânimes quanto ao fato de que em determinada população, são os indivíduos que eliminam mais ovos pelas fezes os que desenvolvem a forma hepatoesplênica, mas muitos pensam que sim (Klöetzel, 1962a, Coura & Conceição, 1981; Hiatt, 1976; Siongok et al., 1976). Todavia, em uma área endêmica, nem todos os indivíduos com eliminação de grande quantidade de ovos pelas fezes desenvolvem a forma hepatoesplênica, e em alguns em que esta se manifesta poucos vermes puderam ser removidos durante a filtração extracorpórea do sangue porta (Araújo, 1976; Luz, 1970). Assim, a carga parasitária não é o único fator responsável pela hepatoesplenomegalia na esquistossomose.

O número e a intensidade das reinfecções, particularmente em adolescentes e jovens, são fatores essenciais ao desenvolvimento da forma hepatoesplênica. Coura et al. (1982, 1974), estudando 4.056 casos observados no Rio de Janeiro, fora de área endêmica, jamais encontraram formas evolutivas da doença, embora observando elevado percentual de formas graves estabilizadas (Coura, 1975). Ao contrário, em áreas endêmicas viram grande percentagem de formas evolutivas (Coura, Conceição & Pereira, 1984).

Há estudos em áreas endêmicas mostrando correlação entre a freqüência dos contatos com a água e a prevalência Klöetzel da infecção (Jordan, 1972). Entretanto, as exposições aos focos de infecção não resultam, sempre, no aumento da carga parasitária. Em alguns indivíduos os ovos desaparecem das fezes mesmo quando continuam sujeitos aos riscos de reinfecções (Hairston, 1973). Pessoas tratadas e expostas aos mesmos riscos de reinfecção apresentam diferentes graus de eliminação de ovos pelas fezes (Butterworth et al., 1985; Dessein et al., 1988). Alguns não se reinfectam e outros são suscetíveis às reinfecções (Prata et al., 1980). Em Caatinga do Moura, a análise de 269 *pedigrees* de indivíduos, por intermédio Klöetzel de análises de segregação, levaram Abel et al. (1991) à conclusão de que a resistência/suscetibilidade à infecção por *S. mansoni* estão na dependência de um gene co-dominante maior.

Além da influência da carga parasitária e das exposições ao risco de reinfecções, o desenvolvimento da forma hepatoesplênica está na dependência de fatores genéticos. Há muito tempo já havia sido verificada a ocorrência de várias formas hepatoesplênicas em uma mesma família nuclear (Conceição & Coura, 1979; Klöetzel, 1958). Nas áreas endêmicas, certas famílias são estigmatizadas pela freqüência de hematêmeses. Como os membros da família estão habitualmente sujeitos aos mesmos fatores ambientais, torna-se difícil separar o que seria genético ou ambiental (Warren, 1973). Em Catolândia foi verificado que a concentração era muito maior e estava relacionada mais ao fato de a mãe ser Klöetzel hepatoesplênica (efeito materno) (Tavares-Neto & Prata, 1989a, 1989b). O estudo dos heredogramas das famílias não sugere herança mendelina simples, mas provavelmente multifatorial e, possivelmente, poligênica. Ainda em Catolândia (Tavares-Neto & Prata, 1989a, 1989b), foi verificado que os hepatoesplênicos tiveram coeficiente de endocruzamento de 26,8%, contra 12,5% dos hepatointestinais, e que eram, em sua maioria, brancos. A consangüinidade torna mais provável a concentração de genes e a conseqüente exacerbação de características. A menor freqüência de formas hepatoesplênicas nos indivíduos negros, apesar de adquirirem a infecção na mesma freqüência e intensidade (Prata & Schroeder, 1967) e de viverem em piores condições socioeconômicas (Tavares-Neto & Prata, 1990), também foi constatada em outras regiões da Bahia (Prata, 1993).

A resposta imune do hospedeiro na esquistossomose está intimamente vinculada à suscetibilidade e à resistência às reinfecções, à carga parasitária e à morbidade (Gazzinelli & Colley, 1992). Muitos estudos têm sido realizados: com pacientes hospitalizados (Colley et al., 1983, 1986); hepatoesplênicos de áreas endêmicas (Colley et al., 1986; Ellner et al., 1981); hepatointestinais (Tweardy et al., 1987; Bahia-Oliveira et al., 1992); pacientes que passaram por tratamento específico (Zwingenberger et al., 1989; Muniz-Junqueira et al., 1991); e sobre imunogenética (Ohta et al., 1982; Hafez et al., 1991).

A fibrose no fígado, como em qualquer órgão, resulta da deposição de excesso de tecido conjuntivo, composto principalmente de colágeno, que representa as proteínas fibrilares, mas também os componentes não fibrilares (fibronectina, laminina, carboidratos complexos e outros elementos) (Rojkind, 1988). Há diferentes tipos de colágeno, que representam produtos de diferentes genes. A síntese do colágeno não é atividade exclusiva das células fibroblásticas, podendo resultar de células endoteliais, de Ito, de Kupffer, miofibroblastos, hepatócitos e outras células, desde que adequadamente estimuladas (Grimaud, 1983). A fibrose hepática poderia resultar da proliferação de células que sintetizam o colágeno, do aumento da formação de colágeno em células existentes ou da deficiência na degradação do colágeno, que estaria continuamente em formação (Lehman & Bassily, 1971). Experimentalmente, tem sido mostrado que a

formação do granuloma e da fibrose periportal é regulada por citocinas. Estudos no Sudão mostraram que IFN-γ está associado com redução e TNF-α, com aumento da fibrose periportal (Henri et al., 2002).

Na esquistossomose crônica sem lesões hepáticas avançadas, o parasito e o hospedeiro estão em equilíbrio. Os elementos patogênicos depositados nos tecidos, quaisquer que sejam, são eliminados ou neutralizados em ritmo apropriado e sem maiores conseqüências para o organismo humano. A resposta do hospedeiro às agressões está controlada e guarda aparente proporção com os estímulos. Este equilíbrio seria alterado, ou por aumento do mesmo estímulo com o organismo não conseguindo manter o ritmo de neutralização dos elementos que lhe são nocivos, ou por modificação no modo de reagir do hospedeiro, gerando alteração dos tecidos e paulatinamente instalando a fibrose periportal. O fato de a esquistossomose crônica não se desenvolver em pessoas que saíram das áreas endêmicas levando sua carga parasitária sugere a importância das reinfecções, e o acometimento somente de pequena proporção dos indivíduos vivendo, aparentemente, sob as mesmas condições e sujeitos aos mesmos estímulos mostra a importância da reação do hospedeiro (Prata, 1993).

A relevância de outros fatores agravantes ainda não está suficientemente esclarecida. Algumas situações ligadas a ambiente, hábitos de vida e hospedeiros intermediários exercem importância fundamental, e certamente atuam alterando a carga parasitária ou as reinfecções. Certas condições associadas, como o alcoolismo, pela sua freqüência, carecem de mais esclarecimentos.

Experimentalmente, há indicações de que o alcoolismo diminui a resposta imune granulomatosa do hospedeiro aos ovos de *S. mansoni* (Orrego et al., 1981). Em camundongos, o alcoolismo diminui o número de vermes, a oviposição, a formação de granulomas e o grau de fibrose (Kasanda, 1984). Em algumas áreas endêmicas, Kasanda (1984) estudou 154 etilistas e 370 abstêmios. Nestes, a prevalência de exames de fezes foi de 68,9%, em comparação com 57,1% nos alcoólatras. A quantidade de ovos eliminada pelas fezes foi a mesma, sendo que nos abstêmios havia 35 (13,7%) eliminando mais de mil ovos por grama de fezes, em comparação com nove (10,2%), entre os alcoólatras. As formas hepatoesplênicas foram encontradas em 26 (10,2%) abstêmios e em seis (6,8%) alcoólatras; nos 26 abstêmios, a forma estava descompensada em um e, entre os seis alcoólatras, em dois.

A idéia é que tanto alcoolismo e certas condições associadas, como hepatite por vírus, salmoneloses e outras infecções, não parecem intervir na instalação da forma hepatoesplênica, mas facilita sua descompensação (Chen & Mott, 1988).

Quanto à desnutrição, uma dieta deficiente pode reduzir a produção de ovos (Dewitt, 1957), diminuir ou suprimir o tamanho dos granulomas (Akpom & Warren, 1975; Knauft & Warren, 1969) ou suprimir a fibrose periportal (Coutinho et al., 1997). O granuloma esquitossomótico é uma fonte de estímulo de fibroblastos, importante na fibrose hepática (Wyler, Wahl & Wahl, 1978), na regulação da quantidade de colágeno (Warren, 1980) e na liberação de substâncias capazes de atrair células sintetizadoras de constituintes da fibrose periportal (Grimaud & Borojevic, 1977).

Evolutivamente, as formas hepatoesplênicas são inicialmente sem hipertensão porta, apenas com a presença de granulomas periportais e com aumento do fígado, porém ainda de consistência normal, e o baço também aumenta à custa de hiperplasia celular. Com o decorrer do tempo e a acentuação da fibrose periportal (fibrose de Symmers) e a dificuldade da circulação venosa intra-hepática, a pressão na veia porta aumenta gradativamente, o fígado torna-se endurecido e noduloso pela retração dos espaços periportais e pela saliência do tecido hepático normal. A pressão se transmite à veia esplênica, o baço se

distende e também se torna fibroso e endurecido. Abrem-se colaterais e dilatam-se as veias para baixo do sistema porta inferior e hemorroidário e para cima com aparecimento das varizes gastroesofagianas, podendo romper as veias inferiores, produzindo melena, e as esofágicas, produzindo-se hematêmeses e melena, de intensidades variáveis e até fatais. Nas Figuras 2 e 3 já apresentadas neste capítulo observam-se, respectivamente, uma radiografia de esôfago com volumosas varizes esofágicas e uma esplenoportografia com dilatação das veias porta e esplênica, circulação colateral e bloqueios da circulação porta intra-hepática. Em geral a função hepática é conservada, em parte graças às artérias supra-hepáticas. Entretanto, nas grandes hemorragias com grave isquemia hepática ou na associação com outros agravos como alcoolismo, hepatite e desnutrição pode ocorrer insuficiência hepática, evoluindo para a forma hepatoesplênica com hipertensão porta descompensada e mesmo certo grau de alterações cirróticas focais, caracterizadas por regeneração nodular hepatocelular e septos e faixas fibrosos (áreas de cicatrização pós-necróticas) (Doenhoff et al., 1981). Pode haver ainda complicações como trombose das veias porta e/ou esplênica, agravando ainda mais a hipertensão portal e as hemorragias.

Em relação à evolução da hipertensão pulmonar, a maioria dos pacientes diagnosticados nos hospitais já apresenta manifestações clínicas de *cor pulmonale*, muitos com insuficiência ventricular direita. Neste estágio a doença evolui rapidamente para o óbito. Muitos doentes em fases menos avançadas da doença foram acompanhados por sete anos, sem evolução do quadro clínico (Cavalcanti & Tompson, 1964), podendo inclusive manter a mesma pressão média da artéria pulmonar por 15 anos; todavia, 33% faleceram, em dez anos de acompanhamento (Guimarães & Guimarães, 1991). A síndrome cianótica é de pior prognóstico, embora eventualmente possa haver regressão do quadro clínico após tratamento específico (Wessel et al., 1965).

PERSPECTIVAS

Apesar da irregularidade dos programas de controle da esquistossomose no Brasil, as formas graves da doença, sua morbimortalidade e internação hospitalar têm sido reduzidas, principalmente devido ao aparecimento, na década de 1970, de duas drogas de excelente eficácia e boa tolerância: a oxamniquine e o praziquantel. Em conseqüência, as intervenções cirúrgicas, principalmente as derivações venosas do tipo 'esplenorrenal', as ligaduras de varizes esofagianas e as esplenectomias têm sido cada vez menos necessárias. Por outro lado, as novas técnicas de avaliação das formas graves, principalmente da forma hepatoesplênica, como a ultra-sonografia, a tomografia computadorizada e a ressonância magnética, trouxeram um enorme avanço na avaliação não invasiva das formas graves e da própria morbidade da doença.

As perspectivas de redução da prevalência da infecção esquistossomótica e o bloqueio de sua expansão para áreas ainda não endêmicas no Brasil, particularmente para o Sul, Centro-Oeste e região amazônica, dependem de uma especial atenção do nosso sistema de saúde em nível federal, estadual e municipal, reorganizando o programa de controle da doença nos seus três níveis de atenção. O saneamento básico, o suprimento de água tratada, a educação individual e comunitária e o tratamento periódico, mediante a busca ativa de casos, constituem os quatro pilares de um programa de controle da esquistossomose, de sua expansão e naturalmente das formas graves da doença.

Ao ministério da Saúde caberia a formulação, a normatização, o acompanhamento e a fiscalização da execução do mencionado programa, inclusive do financiamento, com repasse às secretarias estaduais

e municipais de Saúde, para garantir o bom desenvolvimento e para que o programa tenha uniformidade de ações e continuidade em sua execução. Às secretarias estaduais de Saúde caberia o treinamento do pessoal técnico, a execução das obras de saneamento e o suprimento de água tratada, a reciclagem dos agentes de saúde e o acompanhamento do programa, a ser executado pelas secretarias municipais de Saúde no que tange à busca ativa de casos, tratamentos periódicos, pequenas obras de saneamento e educação individual e comunitária.

REFERÊNCIAS

ABDEL-WAHAB, M. F. et al. The use of ultrasonography in diagnosis of different schistosomal- syndromes. In: PROCEEDINGS OF THE THIRD INTERNATIONAL WORKSHOP ON DIAGNOSTIC ULTRASOUND IMAGING, 3, 1978, Cairo. *Anais...* Cairo: Al-Ahram Press, 1978.

ABDEL-WAHAB, M. F. et al. Sonographic studies of schoolchildren in a village endemic of *Schistosoma mansoni*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 84: 69-73, 1990.

ABEL, L. et al. Evidence for the segregation of a major gene in human suceptibility/resistance to infection by *Schistosoma mansoni*. *American Journal of Human Genetics*, 48: 959-970, 1991.

ABENSUR, H. et al. Nephrotic syndrome associated with hepatointestinal schistosomiasis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 34: 273-276, 1992.

AKPOM, C. A. & WARREN, K. S. The inhibition of granuloma formation around *Schistosoma mansoni* eggs VI. Protein, calorie, and vitamin deficiency. *The American Journal of Pathology*, 79: 435-452, 1975.

ALVARENGA, R. J. & PINTO, E. P. Pólipos esquistossomóticos do reto. *Revista da Associação Médica de Minas Gerais*, 11: 8-12, 1960.

ANDRADE, Z. A. Schistosomal hepatopathy. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99, supl. 1: 51-57, 2004.

ANDRADE, Z. A. & ABREU, W. V. Follicular lymphoma of the spleen in patients with hepatosplenic schistosomiasis mansoni. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 20: 237-243, 1971.

ANDRADE, Z. A. & ANDRADE, S. G. Pathogenesis of schistosomosal pulmonary arteritis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 19: 305-310, 1970.

ANDRADE, Z. A. & BINA, J. C. A patologia da forma hepato-esplênica da esquistossomose mansônica em sua forma avançada (Estudo de 232 necropsias completas). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 78: 285-305, 1983.

ANDRADE, Z. A. & QUEIROZ, A. Lesões renais na esquistossomose hepatoesplênica. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 10: 36, 1968.

ANDRADE, Z. A. & ROCHA, H. Schistosomal glomerulopathy. *Kidney International*, 16: 23-29, 1979.

ANDRADE, Z. A. & BINA, J. C. A patologia da forma hepato-esplênica da esquistossomose mansônica em sua forma avançada (Estudo de 232 necropsias completas). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 78: 285-305, 1983.

ANDRADE, D. R. et al. Associação da esquistossomose mansônica hepatoesplênica e linfoma histiocítico. (Schistosomiasis mansoni in association with histiocyctic lymphoma). *Arquivos de Gastroenterologia*, 19: 77-80, 1982.

ARAÚJO, J. G. C. *Filtração Extracorpórea do Sangue Portal para Remoção de* Schistosoma mansoni, 1976. Tese de Doutorado, Recife: Faculdade Medicina, Universidade Federal de Pernambuco.

BAHIA-OLIVEIRA, L. M. G. et al. Differential cellular reactivity to adult worm antigens of patients with different clinical forms of schistosomiasis mansoni. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 86: 57-61, 1992.

BAMBIRRA, E. A. et al. The tumoral form of schistosomiasis: report of a case with cerebellar involvement. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 33(1): 76-79, 1984.

BAMBIRRA, E. A. et al. Testicular schistosomiasis mansoni a differential diagnosis problem with testicular neoplasias. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 15: 791-792, 1986.

BARBOSA, C. H. Is there dermatitis in Egyptian Schistosomiasis? *American Journal of Hygiene*, 24: 587, 1936.

BARBOSA, F. S. Morbidade da esquistossomose. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, (número especial), 3-159, 1966.

BARBOSA, F. S. & VOSS, H. Evolution of the clinical gradient of schistosomiasis infections in a small town in North-Eastern Brazil. *Bulletin of the World Health Organization*, 40: 966-969, 1969.

BARBOSA, F. S. et al. Levantamentos seccionais sobre a esquistossomose no nordeste do Brasil II Estado do Rio Grande do Norte. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 4: 195-197, 1970a.

BARBOSA, F. S. et al. Levantamentos seccionais sobre esquistossomose no nordeste do Brasil III Estado de Pernambuco (Município de São Lourenço da Mata). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 4: 269-271, 1970b.

BARBOSA, H. F. *Avaliação da Fibrose Periportal da Esquistossomose Mansônica, em Área de Média e Alta Endemicidade no Estado de Minas Gerais, Utilizando o Método Qualitativo das Pranchas Propostas pela Organização Mundial de Saúde*, 2003. Tese de Doutorado, Belo Horizonte: Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais.

BARRETO, A. M. Esquistossomose aguda: abdome agudo, obstrução intestinal devido a granuloma esquistossomótico. *Brasil Médico*, 67: 420, 1953.

BASSILY, S. et al. Immunogenicity of hepatitis B vaccine in patients infected with *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 36: 549-553, 1987.

BERTRAND, E. et al. L'hypertension arterielle pulmonare bilharzienne. Estude clinique et hemodinamique chez 37 molades. *Archives des Maladies du Coeur et des Vaisseaux*, 71: 216-221, 1978.

BICALHO, S. A. & SOUZA, R. P. Pólipo esquistossomótico do intestino delgado. *O Hospital*, 66: 425-430, 1964.

BINA, J. C. *Influência da Terapêutica Específica na Evolução da Esquistossomose Mansônica*, 1977. Tese de Doutorado, Salvador: Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia.

BINA, J. C. & PRATA, A. An attempt to control schistosomiasis mansoni in an endemic area by the use of hycanthone as chemotherapeutic agent. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 8: 217-222, 1974.

BINA, J. C. & PRATA, A. Oxamniquime no tratamento da esquistossomose em uma população em área de baixa endemicidade. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 22, supl. 4: 212-216, 1980.

BINA, J. C. & PRATA, A. Regressão da hepatosplenomegalia pelo tratamento específico da esquistossomose. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 16: 213-218, 1983.

BINA, J. C. & PRATA, A. Esquistossomose na área hiperendêmica de Taquarandi-Infecção pelo *Schistosoma mansoni* e formas graves. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 36: 211-216, 2003.

BINA, J. C. et al. A field study of proteinuria in individuals infected with *Schistosoma mansoni*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 18: 7-10, 1985.

BOGLIOLO, L. *Patologia*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1981.

BRENER, Z. & MOURÃO, O. G. Inquérito clínico-epidemiológico em focos endêmicos de esquistossomose mansônica em Minas Gerais. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 8: 519-526, 1956.

BRITO, E. et al. Imunocomplexos na esquistossomose IV. Dosagem dos IC circulantes em pacientes com ou sem nefropatia. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 21: 119-124, 1979.

BUTTERWORTH, A. E. et al. Immunity after treatment of human schistosomiasis mansoni. II Identification of resistant individuals and analysis of their immune responses. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 79: 393, 1985.

CARLIER, Y. et al. Immunological studies in human schistosomiasis. I. Parasitic antigen in urine. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 24: 949-954, 1975.

CAVALCANTI, I. L. & TOMPSON, G. História natural e diagnóstico diferencial da hipertensão arterial pulmonar esquistossomótica. *Jornal Brasileiro de Medicina*, 8: 335-338, 1964.

CERRI, G. G.; ALVES, V. A. F. & MAGALHÃES, A. Hepatosplenic schistosomiasis mansoni: ultrasound manifestations. *Radiology*, 133: 777-780, 1984.

CHAVES, E. A patologia das lesões vasculares pulmonares no 'cor pulmonale' crônico esquitossomático. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 19: 159-173, 1965.

CHAVES, E. et al. Carcinoma e esquistossomose do colo uterino. *Revista de Ginecologia e Obstetrícia*, 129: 201-209, 1972.

CHEEVER, A. W. A quantitative post-mortem study of schistosomiasis mansoni in man. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 17: 38-64, 1972.

CHEN, M. G. & MOTT, K. E. Progress in assessment of morbidity due to *Schistosoma mansoni* infections. A review of recent literature. *Tropical Diseases Bulletin*, 85: R1-R56, 1988.

CHEN, M. G. et al. Hepatitis B and schistosomiasis: interaction or no interaction? *Tropical Diseases Bulletin*, 90: R97-R115, 1993.

CHIANG, S. T. & CHANG, K. C. Schistosomiasis japonica: radiological pulmonary manifestations in 47 cases. *Chinese Medical Journal*, 76: 24-39, 1958.

COELHO, L. H. Carcinoma in situ and invasive sqamous cell carcinoma associated with schistosomiasis of the uterine cervix a report of three cases. *Acta Citology*, 23: 45-48, 1979.

COLLEY, D. G. et al. IX. T lymphocyte subset analysis by monoclonal antibodies in hepatosplenic disease. *Scandinavian Journal of Immunology*, 17: 297-301, 1983.

COLLEY, D. G. et al. Immune responses during human schistosomiasis. XII Differential responsiveness in patients with hepatosplenic disease. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 35: 793-802, 1986.

CONCEIÇÃO, M. J. & COURA, J. R. Morbidade da esquistossomose mansônica em uma comunidade rural de Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 12: 87-103, 1978.

CONCEIÇÃO, M. J. & COURA, J. R. Ocorrência familiar de esplenomegalia esquistossomótica em uma área rural de Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 13: 17-20, 1979.

CONCEIÇÃO, M. J. & COURA, J. R. Estudo evolutivo da esquistossomose mansoni no período de 6 anos em uma área rural do Vale do Rio Doce, Minas Gerais. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 16, 1980, Natal, Resumo 302. *Anais...* Natal, 1980.

CONCEIÇÃO, M. J. et al. Estudo piloto sobre a esquistossomose mansônica em área rural no município de Itanhomi, Vale do Rio Doce, Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 12: 81-86, 1978.

CORREIA, E. I. S.; MARTINELLI, R. P. & ROCHA, H. Está desaparecendo a gromerulopatia da esquistossomose mansônica? *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 30: 341-343, 1997.

CORT, W. W. Studies on schistosome dermatitis XI Status of knowledge after more than twenty years. *American Journal of Hygiene*, 52: 251, 1950.

COSTA, M. F. F. L. *Estudo Clínico-epidemiológico da Esquistossomose Mansônica em Comercinho, Minas Gerais (1974/1981)*, 1983. Tese de Doutorado, Belo Horizonte: Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais.

COSTA, M. F. I. et al. Evolução da esquistossomose em uma área hiperendêmica de Minas Gerais após sete anos de observação inicial. In: XX CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 20, 1984, Salvador, Resumo 165. *Anais...* Salvador, 1984.

COURA, J. R. Follow-up of patients with schistosomiasis living in non-endemic áreas in Brazil. *Brasília Médica*, 11: 45-47, 1975.

COURA, J. R. *Esquistossomose Pulmonar: estudo clínico e experimental*. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1979.

COURA, J. R. & CONCEIÇÃO, M. J. Correlação entre carga parasitária de *S. mansoni* e gravidade das formas clínicas em uma comunidade rural de Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 14: 93-97, 1981.

COURA, J. R.; CONCEIÇÃO, M. J. & PEREIRA, J. B. Morbidade da Esquistossomose Mansônica no Brasil. III – estudo evolutivo em uma área endêmica no período de dez anos. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 79: 447-453, 1984.

COURA, J. R. et al. Esquistossomose pulmonar. *O Hospital*, 63: 993-1.013, 1963.

COURA, J. R. et al. Esquistossomose aguda autóctone de foco na cidade do Rio de Janeiro. Estudo de 22 casos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 8: 193-198, 1970.

COURA, J. R. et al. Evolutive pattern of Schistosomiasis and life-span of *S. mansoni* in non-endemic area in Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 8: 193-198, 1974.

COURA, J. R. et al. Morbidade da Esquistossomose Mansônica no Brasil. I – Estudo de 4.652 casos observados no Rio de Janeiro de 1960 a 1979. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 77: 69-88, 1982.

COURA, J. R. et al. Morbidade da esquistossomose no Brasil. II – Estudo em quatro áreas de campo nos Estados de Minas Gerais, Sergipe e Paraíba. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 78: 1-11, 1983.

COURA, J. R. et al. Cross-sectional and evolutive studies of schistosomiasis mansoni in untread and treated endemic áreas in the Southeast and Northeast of Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87: 175-182, 1992.

COUTINHO, E. M. et al. Pathogenesis of schistosomal 'pipestem' fibrosis: a low-protein diet inhibits the development of 'pipestem' fibrosis in mice. *International Journal of Experimental Pathology*, 78: 337-341, 1997.

DAY, H. B. The aetiology of Egyptian Splenomegaly and hepatic cirrhosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 18: 121-130, 1924.

DESSEIN, A. J. et al. Human resistance to *Schistosoma mansoni* is associated with IgG reactivity to a 37-k Da larval surface antigen. *Journal of Immunology* , 140: 2.727-2.736, 1988.

DEWITT, W. B. Experimental schistosomiasis mansoni in mice maintained on nutricionally deficient diets. I. Effects of a Torula yeast ration deficient in Factor 3, cystine and vitamin. *European Journal of Parasitology*, 43: 119, 1957.

DIAS, C. B. *Quimioterapia Antimonial na Esquistossomose Mansônica*, 1949. Tese de Doutorado, Belo Horizonte: Faculdade de Medicina, Universidade de Minas Gerais.

DICKERSON, G. Observations on 'Lung Shift' after chemotherapy in mice infected with *Schistosoma mansoni Bulletin of the World Health Organization Genova*, 33: 509-515, 1965.

DIETZE, R. & PRATA, A. Rate of reversion of hepatosplenic schistosomiasis after specific therapy. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 19: 69-73, 1986.

DOEHRING-SCHWERDTFEGER, E. et al. Sonomorphological abnormalities in sudanese children with *Schistosoma mansoni* infection: a proposed staging-system for field diagnosis of periportal fibrosis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 41: 63-69, 1989.

DOENHOFF, M. J. et al. The schistosome egg granuloma: immunopathology in the cause of host protection or parasite survival? *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 80: 503-514, 1981.

DOMINGUES, A. L. C. & COUTINHO, A. D. Reduction of morbidity in hepatosplenic schistosomiasis mansoni after treatment with praziquantel: a long term study. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 23: 101-107, 1990.

ELLNER, J. J. et al. Dichotomics in the reactivity to worm antigen in human schistosomiasis mansoni. *Journal of Immunology* , 126: 309-312, 1981.

ERFAN, M. et al. Pulmonary schistosomiasis. A clinical and radiological study. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 42: 477-485, 1949.

FAIRLEY, N. H. A comparative study of experimental bilharziasis in Australian troops, and the significance of the symptoms noted. *The Quarterly Journal of Medicine*, 12: 391, 1918-1919.

FARIA, J. L. et al. Cianose na esquistossomose; papel das fístulas arteriovenosas pulmonares. *Anais Paulistas de Medicina e Cirurgia*, 73: 166-168, 1957.

FATURETO, M. C. et al. Nódulo pulmonar esquistossomótico simulando neoplasia: relato de caso. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 36: 735-737, 2003.

FAUST, E. C. An inquiry into the ectopic lesions in schistosomiasis. *American Journal of Tropical Medicine*, 28: 175-200, 1948.

FAUST, E. C. & MELENEY, H. E. Studies on schistosomiasis japonica. *American Journal of Hygiene*, 3, 1924. (Monography Series)

FERRARI, T. C. A. Involvement of central nervous system in the schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99: 59-62, 2004.

FERREIRA, H. et al. A fase aguda da esquistossomose mansônica. Considerações sobre 25 casos observados em Belo Horizonte. *Jornal Brasileiro de Medicina*, 11: 54-67, 1966.

FERREIRA, J. M. Febre tifóide. *Revista Médica*, 38: 181, 1954.

FERREIRA, L. A. et al. Forma tumoral encefálica esquistossomótica: apresentação de um caso tratado cirurgicamente. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 31: 89-93, 1998.

FOWLER, R.; LEE, C. & KEYSTONE, J. S. The role of corticosteroids in the treatment of cerebral schistosomiasis caused by *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 61: 47-50, 1999.

FRAGA, F. & REIFUR, E. E. Forma pseudoblastomatosa de esquistossoma hepático. *Folha Médica*, 63: 175-186, 1971.

FUJII, Y. Katayama disease. In: WARREN, K. S. *Schistosomiasis: the evolution of a medical literature*. Cambridge, Massachusetts, Londres: The MIT Press, 1973.

GALVÃO-CASTRO, B. et al. Correlation of circulation immune complexes and complement breakdown products with the severity of the disease in human schistosomiasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 30: 1.238-1.246, 1981.

GAZZINELLI, G. & COLLEY, D. G. Human immune responses during schistosomiasis mansoni. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 25: 125-134, 1992.

GIRGES, R. *Schistosomiasis*. Londres: John Bale & Sons, 1934.

GOFFETE, S. et al. Schistosomal myelopathy: relevance and limits of contrast enhanced magnetic resonance imaging in spinal cord infections. *Acta Neurologica Belgica*, 98: 289-291, 1998.

GOLDSMITH, E. J. et al. Surgical recovery of schistosomes from the portal blood. *Journal of the American Medical Association*, 19: 235-240, 1967.

GOMES, M. C. et al. Linfoma nodular do baço associado à esquistossomose mansônica hépato-esplênica. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL E CONGRESSO DA SOCIEDADE LATINO-AMERICANA DE MEDICINA TROPICAL, 1, 1984, Salvador, Resumo 174. *Anais...* Salvador, 1984.

GRIMAUD, J. A. Immunopathology of hepatic fibrosis. In: GIGASE, P. L. & VAN MARCK, A. E. (Eds.) *From Parasitic Infection to Parasitic Disease*. Basel: S. Karger, 1983

GRIMAUD, J. A. & BOROJEVIC, J. A. Chronic human schistosomiasis mansoni. Pathology of the Disse's space. *Laboratory and Clinical Investigation*, 36: 268-276, 1977.

GUIMARÃES, A. & GUIMARÃES, I. Pulmonary schistosomiasis. In: OM, P. S. *Lung Disease in the Tropics*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1991.

GUIMARÃES, A. C. Blood gas changes and pulmonary hemodynamics in portal hypertension due to schistosomiasis mansoni. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 19: 80-93, 1977.

GUIMARÃES, R. X. *Freqüência do Antígeno Austrália em Indivíduos Normais, Índios do Parque Xingu e Portadores de Esquistossomose Mansônica*, 1973. Tese de Doutorado, São Paulo: Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo.

HAFEZ, M. et al. Immunogenetic susceptibility for post-schistosomal hepatic fibrosis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 44: 424-433, 1991.

HAIRSTON, N. G. The dynamics of transmission. In. ANSARI, N. *Epidemiology and Control of Schistosomiasis (Bilharziasis)*. Basel: S. Karger, 1973.

HAMMAD, H. A. et al. Study on some hepatic functions and prevalence of hepatitis B surface antigenaemia in Egyptian children with schistosomal hepatic fibrosis. *Journal of Tropical Paediatrics*, 36: 126-130, 1990.

HENRI, S. et al. Citokine regulation of periportal fibrosis in human infected with *Schistosoma mansoni*: IFN-y is associated with protection against fibrosis and TNF-± with aggravation of disease. *Journal of Immunology* , 169: 929-936, 2002.

HIATT, R. A. Morbidity from *Schistosoma mansoni* infections: an epidemiology study based on quantitative analysis of egg excretion in two highland Ethiopian villages. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 25: 808-817, 1976.

HOMEIDA, M. et al. Diagnosis of pathologically confirmed Symmers' periportal fibrosis by ultrasonography: a prospective blinded study. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 38: 86-91, 1988a.

HOMEIDA, M. et al. Morbidity associated with *Schistosoma mansoni* infection as determined by ultrasound: a study in Gezira, Sudan. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 39: 196-201, 1988b.

HOUBA, V. et al. Soluble antigens and antibodies in sera from baboons infected by *Schistosoma mansoni*. *Journal of Immunology* , 117: 705-707, 1976.

JORDAN, P. Epidemiology and control of schistosomiasis. *British Medical Bulletin*, 28: 55-59, 1972.

JORGE, P. A. R. et al. Obstrução intestinal por granuloma esquistossomótico. Apresentação de um caso com estudo clínico-patológico. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 13: 147-148, 1967.

KARANJA, D. M. S. et al. Studies on schistosomiasis in Western Kenya: I evidence for immune-facilitated excretion of schistosome eggs from patients with *Schistosoma mansoni* and human immunodeficiency virus coinfections. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 56: 515-521, 1997.

KARANJA, D. M. S. et al. Studies on schistosomiasis in Western Kenya: II efficacy of praziquantel for treatment of schistosomiasis in persons coinfected with humam immunodeficiency vírus-1. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 59: 307-311, 1998.

KARANJA, D. M. S. et al. Resistance to reinfection with *Schistosoma mansoni* in occupationally exposed adults and effect of HIV-1 co-infection on susceptibility to schistosomiasis: a longitudinal study. *The Lancet*, 360: 592-596, 2002.

KASANDA, M. K. W. N. *Influência do Etilismo Crônico na Esquistossomose Mansônica Humana Exeprimental*, 1984. Tese de Doutorado, Brasília: Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Nacional de Brasília.

KATSURADA, F. *Schistosoma japonicum*, ein neuer menschlicher Parasit, durch welchen eine endemische Krankeit in vercahiedenen Gegenden Japans verursacht wird. In: WARREN, K S. *Schistosomiasis: the evolution of a medical literature*. Cambridge, Massachusetts, Londres: The MIT Press, 1973 [1904].

KATZ, N. & BRENER, Z. Evolução clínica de 112 casos de esquistossomose mansônica observados após 10 anos de permanência em focos endêmicos de Minas Gerais. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 8: 139-142, 1966.

KATZ, N. et al. Re-infection of patients in schistosomiasis mansoni endemic áreas after specific treatment I. Influence of age and worm burden. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 20: 273-278, 1978.

KLOETZEL, K. A síndrome hepatosplênica da esquistossomose mansônica. Considerações sobre a incidência familial. *Revista Brasileira de Medicina*, 15: 263-265, 1958.

KLOETZEL, K. *Aspectos Epidemiológicos da Esquistossomose Mansônica em uma População de Pernambuco: suas correlações clínicas*, 1962a. Tese de Doutorado, São Paulo: Universidade de São Paulo.

KLOETZEL, K. Splenomegaly in schistosomiasis mansoni. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 11: 472-476, 1962b.

KLOETZEL, K. Sobre a conveniência da quimioterapia da esquistossomose em população em contínuo contato com os focos. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 5: 106-110, 1963a.

KLOETZEL, K. Some quantitative aspects of diagnosis and epidemiology in schistosimiasis mansoni. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 12: 334-347, 1963b.

KLOETZEL, K. Natural history and prognosis of splenomegaly in schistosomiasis mansoni. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 13: 541-544, 1964.

KLOETZEL, K. Morbidity in chronic splenomegaly due to Schistosomiasis mansoni: follow-up study in a Brazilian population. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 61: 803-805, 1972.

KLOETZEL, K. & KLOETZEL, J. A síndrome hepatoesplênica na esquistossomose mansônica; considerações sobre um série de 119 casos. *Revista Brasileira de Medicina*, 15: 172-178, 1958.

KNAUFT, R. F. & WARREN, F. S. The effect of calorie and protein manutrition on both the parasite and the host in acute murine schistosomiasis mansoni. *The Journal of Infectious Diseases*, 120: 560-575, 1969.

KOPPISCH, E. Studies on schistosomiasis mansoni in Puerto Rico V. Morbid anatomy of the disease as found in Puerto Ricans. *The Puerto Rico Journal of Public Health and Tropical Medicine*, 16: 395-455, 1941.

LAMBERT, A. C. Notes on some cases of fever with an urticarial rash, occoring in the Yangtze valley. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 3: 278, 1910.

LAMBERT, A. C. Fevers with urticaria and eosinophilia and their relation to infection with *Schistosoma japonicum*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 5: 38, 1911.

LAMBERTUCCI, J. R. et al. Glomerulonephitis in salmonella *Schistosoma mansoni* association. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 38: 97-102, 1988.

LAMBERTUCCI, J. R. et al. *Schistosoma mansoni*: assessment of morbidity before and after control. *Acta Tropica*, 77: 101-109, 2000.

LAMBERTUCCI, J. R. et al. Hepatosplenic schistosomiasis in field-based studies: a combined clinical and sonographic definition. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 147-150, 2001.

LEHMAN, J. S. & BASSILY, S. Endotoxin tolerance in patients with chronic bacteremia and bacteriuria due to Salmonella. *The Journal of Infectious Diseases*, 124: 318-321, 1971.

LIMA, C. A. et al. Pseudoneoplastic lesion of the breast caused by *Schistosoma mansoni. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 37: 63-64, 2004.

LIMA, R. R.; BRITO, E. & ROCHA, H. Glomerulonefrite crônica associada a esquistossomose hepatoesplênica. *Gazeta Médica da Bahia*, 69: 43-50, 1969.

LIVRAMENTO, J. A.; MACHADO, L. R. & SPINA-FRANÇA, A. Cerebrospinal fluid signalization in chronic inflammatory diseases of the central nervous system. *Arquivos de Neuro-psiquiatria*, 44: 351-358, 1986.

LOBO, R. Do colo sigmóide na esquistossomose de Manson-Pirajá da Silva. *Publica Medicine*, 17: 45-48, 1947.

LOPES, M. *Aspectos Renais da Síndrome Hepatoesplênica da Esquistossomose Mansônica*, 1964. Tese de Doutorado, Belo Horizonte: Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais.

LUZ, F. C. Poderia V.S. sintetizar seus resultados com a filtração extracorpórea de sangue porta para remoção de *S. mansoni*? In: PRATA, A. & ABOIM, E. *II Simpósio sobre Esquistossomose*. Salvador: Diretoria de Saúde da Marinha, Universidade Federal da Bahia, 1970.

LYRA, L. G.; REBOUÇAS, G. & ANDRADE, Z. Hepatitis B surface antigen carrier state in hepatosplenic schistosomiasis. *Gastroenterology*, 71: 641-645, 1976.

LYRA, L. G. C. *Antígeno Austrália na Esquistossomose Mansônica*, 1975. Tese de Doutorado, Salvador, Faculdade de Medicina, Universidade da Bahia.

MAGALHÃES, A. Pólipos do intestino grosso. Pólipos esquistossomóticos. Correlação entre 500 autópsias e 776 exames radiológicos. *Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo*, 35: 94-98, 1980.

MAGALHÃES, T. V. B. et al. Comparative clinical and ultrasound study of egg-negative and egg-positive individuals from *Schistosoma mansoni* low morbidity endemic areas, and hospitalized patients with hepatosplenic disease. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 38: 33-37, 2005.

MARQUES, R. J. *Esquistossomose Mansônica Pulmonar: estudo clínico*, 1951. Tese de Doutorado, Recife: Faculdade de Medicina de Recife, Universidade Federal de Pernambuco.

MARQUES, R. J. Esquistossomose mansônica aspectos semiológicos da chamada forma cardiopulmonar. *Jornal Brasileiro de Medicina*, 8: 325-333, 1964.

MEIRA, J. A. Estudo clínico das formas pulmonares da esquistossomose mansônica. *Arquivos de Cirurgia Clinica e Experimental*, 6: 3-136, 1942.

MEIRA, J. A. *Esquistossomose Hepato-esplênica*, 1951. Tese de Doutorado, São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

MEIRA, J. A. Formas clínicas e classificação da esquistossomose mansônica. *Proceedings of the International Congress for Tropical Medicine and Malaria*, 2: 65-66, 1963.

MEIRA, J. A. Esquistossomose mansônica. In: MEIRA, D. A. *Clínica de Doenças Tropicais e Infecciosas*. Rio de Janeiro: Interlivros, 1991

MELENEY, H. E. The histopathology of Kala-azar in the hamster, monkey and man. *The American Journal of Pathology*, 1: 147, 1925.

MENDONÇA, M. Z. G. *Estudo sobre a Esquistossomose em Alhambra, Estado da Paraíba*, 1982. Tese de Doutorado, Rio de Janeiro: Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

MENEZES, A. P. *Esquistossomose Mansônica no Município de Riachuelo, Sergipe – Estudo Epidemiológico, Clínico e Laboratorial*, 1976. Tese de Doutorado, Rio de Janeiro: Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

MENEZES, A. P. & COURA, J. R. Estudo seccional sobre a esquistossomose mansônica no município de Riachuelo, Estado do Sergipe. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 13: 1-15, 1979.

MITRE, A. I. et al. Esquistossomose mansônica vesical simulando tumor. Relato de caso. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 26: 74-76, 1980.

MORENO-CARVALHO, O. A. et al. Clinical and cerebrospinal fluid (CSF) profile and CSF criteria for diagnosis of spinal cord schistosomiasis. *Arquivos de Neuro-psiquiatria*, 61: 353-358, 2003.

MUNIZ-JUNQUEIRA, M. I. et al. Specific treatment of hepatosplenic schistosomiasis can increase T-lymphocyte reactivity. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 24: 97-99, 1991.

NASH, T. C. Localization of schistosoma antigen in *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 21: 1.085-1.088, 1974.

NEVES, J. Estudo clínico da fase pré-postural da esquistossomose mansônica. *Revista Associação Médica de Minas Gerais*, 16: 1-4, 1965.

NEVES, J. Quadros clínicos com que se apresenta a forma toxêmica da esquistossomose. In: PRATA, A. & ABOIM, E. *II Simpósio sobre Esquistossomose*. Salvador: Diretoria de Saúde da Marinha, Universidade Federal da Bahia, 1970.

NEVES, J. & MARTINS, N. R. L. Long duration of septicemic salmonellosis: 35 cases with 12 implicated species of Salmonella. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 61: 541-552, 1967.

NEVES, J. & RASO, P. Evolução da forma toxêmica da esquistossomose para a forma hepatoesplênica (Forma de Symmers) em 130 dias. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 7: 256, 1965.

NEVES, J.; MARTINS, N. R. L. L. & TONELLI, E. Forma toxêmica da esquistossomose mansônica. Considerações diagnósticas em torno de 50 casos identificados em Belo Horizonte. *O Hospital*, 70: 1.583-1.603, 1966.

NEVES, J.; TONELLI, E. & CARVALHO, S. M. Estudo das manifestações pulmonares da forma toxêmica de esquistossomose mansônica. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 8: 22-29, 1966.

NOBRE, V. et al. Schistosomal myeloradiculopathy due to *Schistosoma mansoni*: report on 23 cases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 137-141, 2001.

OHTA, N. et al. Immunogenetic analysis of patients with post schistosomal liver fibrosis in man. *Clinical and Experimental Immunology*, 49: 493-499, 1982.

ORREGO, H. et al. Effect of chronic álcool intake on hepatic fibrosis and granulomas in murine schistosomiasis mansoni. *Hepatology*, 1: 416-418, 1981.

OTTENS, H. & DICKERSON, O. Bacterial invasion of Schistosomes. *Nature*, 223: 506-507, 1969.

OUMA, J. et al. Disease in schistosomiasis mansoni in Africa. In. ABDEL, A. F. M. *Schistosomiasis*. London: Imperial College Press, 2001.

PAES, R. A. P. & MARIGO, C. Linfoma folicular gigante e esquistossomose mansônica. (Giant follicular lymphoma in Schistosmiasis mansoni). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 23: 287-292, 1981.

PARPACÉN, J. V. Com relación al problema hepatoesplenico de la schistosomiasis mansoni. *Revista Policlínica de Caracas*, 9: 3187-3218, 3287-3312, 1939.

PAZ, J. A. et al. Spinal cord schistosomiasis in children: analysis of seven cases. *Arquivos de Neuro-psiquiatria*, 60: 224-230, 2002.

PEIXINHO, E. L.; ANDRÉ, S. B. & BINA, J. C. Sintomatologia intestinal na fase crônica da esquistossomose mansônica. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 19: 27-30, 1986.

PESSOA, S. B. & BARROS, P. R. Notas sobre a epidemiologia da esquistossomose mansônica no Estado de Sergipe. *Revista da Sociedade de Medicina e Cirurgião de São Paulo*, 13: 147-154, 1953.

PINTO, C. & ALMEIDA, A. F. Formas clínicas da esquistossomose mansônica no Brasil. *Revista Brasileira de Medicina*, 2: 636-652, 1945.

PINTO, L. Tuberculose pulmonar shistosomática e tuberculose pulmonar bacilar. *Arquivos. Instituto Brasileiro para Investigação da Tuberculose*, 1: 17-22, 1937.

PITTELLA, J. E. Vascular changes in cerebral schistosomiasis mansoni: a histopathological study of fifteen cases. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 34: 898-902, 1985.

PONS, J. A. Studies on schistosomiasis mansoni in Puerto Rico. *The Puerto Rico Journal of Public Health and Tropical Medicine*, 13: 171-254, 1937.

PRATA, A. & ANDRADE, Z. Fibrose hepática de Symmers sem esplenomegalia. *O Hospital*, 63: 617-623, 1963.

PRATA, A. & BINA, J. C. Development of the hepatosplenic form of shcistosomiasis (A study of 20 patients observed during a 5 year period). *Gazeta Médica da Bahia*, 68: 49-60, 1968.

PRATA, A. & MACHADO, R. Alterações pulmonares observadas no tratamento antimonial da esquistossomose. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 2: 29-36, 1960.

PRATA, A. & SCHROEDER, S. A comparison of whites and negroesinfected with *Schistosoma mansoni* in a hyperendemic area. *Gazeta Médica da Bahia*, 67: 93-98, 1967.

PRATA, A. Caracterização da forma hepato-esplênica da esquistossomose. In: PRATA, A. & ABOIM, E. *II Simpósio sobre Esquistossomose*. Salvador: Diretoria de Saúde da Marinha, Universidade Federal da Bahia, 1970.

PRATA, A. Schistosomiasis mansoni. *Clinics in Gastroenterology*, 7: 49-75, 1978.

PRATA, A. Fatores relacionados à instalação da forma hepatoesplênica da esquistossomose mansônica. Memória apresentada à Academia Nacional de Medicina. Rio de Janeiro, 1993.

PRATA, A. A fase inicial da esquistossomose mansônica em área hiperêndemica. Memória apresentada à Academia Nacional de Medicina. Rio de Janeiro, 1995.

PRATA, A. Esquistossomose mansônica. In: VERONESE, R. & FOCACCIA, R. *Doenças Infecciosas e Parasitárias*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

PRATA, A. et al. Classificação clínico-patológica da esquistossomose mansônica. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 10: 303-305, 1976.

PRATA, A. et al. Attempt to control the schistosomiasis transmission by oxamniquine in an hyperendemic locality. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 22, supl. 4: 65-72, 1980a.

PRATA, A. et al. Ensaio de controle de transmissão da esquistossomose pela oxamniquime, em uma localidade hiperendêmica. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 22: 65-72, 1980b.

QUEIRÓS, A. C. O envolvimento do sistema nervoso central na esquistossomose mansônica. *Revista de Patologia Tropical*, 3: 255-261, 1974.

RASO, P. Esquistossomose mansônica. In: BRASILEIRO FILHO, G. *Bogliolo Patologia*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000

RASO, P. & BOGLIOLO, L. Patologia. In: CUNHA, A. S. (Ed.) *Esquistossomose Mansônica*. São Paulo: Edusp, 1970.

RASO, P.; PEDROSO, E. R. P. & NEVES, J. Patologia da forma aguda toxêmica da esquistossomose mansônica. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 19: 45-55, 1986.

RICHTER, J. The impact of chemotherapy on morbidity due to schistosomiasis. *Acta Tropica*, 86: 161-183, 2003.

RICHTER, J. et al. Report on the Second Satellite Symposium on ultrasound in schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 151-156, 2001.

ROCHA, H. Glomerulopatia da esquistossomose mansônica. In: CEDRE (Org.) *Aspectos Peculiares da Infecção por* Schistosoma mansoni. Salvador: Centro Editorial e Didático da Universidade Federal da Bahia, 1984.

ROCHA, H. et al. Renal involvement in patients with hepatosplenic schistosomiasis mansoni. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 25: 106-115, 1976.

ROCHA, M.; OLIVEIRA, V. S. & OLIVEIRA, M. M. G. The interaction of Gram negative bacteria and *Schistosoma mansoni*. in mice with experimental schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 75: 161-172, 1980.

ROCHA, M. O. C. et al. Characterization of the non-apparent clinical form in the initial phase of schistosomiasis mansoni. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 35: 247-251, 1993.

RODRIGUES DA SILVA, J. *Estudo Clínico da Esquistossomose Mansônica (doença de Manson – Pirajá da Silva)*, 1949. Tese de Doutorado, Rio de Janeiro: Universidade do Brasil.

RODRIGUEZ, J. M. R. La schistosomiasis mansoni en Venezuela. *Revista de Sanidad y Asistencia Social*, 8: 169-380, 1942.

ROJKIND, M. Extracellular matrix. In: ARIAS, I. M. et al. (Eds.) *The Liver: biology and pathobiology*.2. ed. New York: Raven Press, 1988

SANT'ANA, E. P. *Bibliografia Brasileira de Esquistossomose (Atualização de 1970 a 1994)*. Salvador: MS/CPqGM/Lacen, 1997.

SANT'ANA, E. P. & REBOUÇAS, G. *Bibliografia Brasileira sobre Esquistossomose: 1908-1969*. Salvador: Fundação Gonçalo Moniz, 1970.

SANTIAGO, J. M. & RATTON, J. L. A. Formas pulmonares. In: CUNHA, A. S. (Ed.) *Esquistossomose mansônica*. São Paulo: Edusp, 1970.

SANTORO, F. et al. Circulating antigens, immune complexes and C3d levels in human schistosomiasis, relationship with *Schistosoma mansoni* egg output. *Clinical and Experimental Immunology*, 42: 219-225, 1980.

SANTOS, E. C. et al. Perfil clínico e critérios diagnósticos da mielorradiculopatia esquistossomótica. *Arquivos de Neuro-psiquiatria*, 59: 772-777, 2001.

SANTOS, M. L. *Esquistossomose Mansônica: estudo da morbidade e interferência da terapêutica específica em uma área endêmica*, 1978. Tese de Doutorado, Rio de Janeiro: Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

SANTOS, M. L. & COURA, J. R. Morbidade da esquistossomose no Brasil. IV – Evolução em pacientes tratados e seus controles. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 81: 53-60, 1986.

SANTOS, R. A. S. Lesões pseudo-malígnas do colo do útero a propósito de um caso de bilharzíase cervical. *Revista de Ciência Médica*, 4: 101-110, 1971.

SCOTT, J. A. The epidemiology of schistosomiasis in Venezuela. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 35: 337-366, 1942.

SERUFO, J. C. *A Associação entre a Hepatite B e a Esquistossomose Mansônica: uma falácia ecológica*, 1997. Tese de Doutorado, Belo Horizonte: Faculdade de Medicina, Universidade Fedederal de Minas Gerais.

SERUFO, J. C. & LAMBERTUCCI, J. R. Esquistossomose e hepatites virais: uma revisão. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 30: 313-322, 1997.

SHAW, A. F. B. & GHAREEB, A. A. The pathogenesis of pulmonary schistosomiasis in Egypt with special reference to Ayerza's disease. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, 46: 401-424, 1938.

SHERLOCK, S. *Diseases of the Liver and Biliar System*. 5. ed. Oxoford: Blackwell Sci Publ, 1975.

SILVA, H. M.; CASSEMIRO, F. P. & MIRANDA, D. Teratoma cístico benigno ovariano e esquistossomose. *Jornal Brasileiro de Ginecologia*, 94: 505-506, 1984.

SILVA, J. H. et al. Mielorradiculopatia esquistossomótica. *Revista Médica de Minas Gerais*, 13: 38-42, 2003.

SILVA, L. C. S. et al. Schistosomal myeloradiculopathy. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 37: 261-272, 2004.

SILVA, L. C. T. *Estudo Médico-Cirúrgico da Esquistossomose de Manson*, 1945. Tese de Doutorado, Recife: Faculdade de Medicina do Recife, Universidade Federal de Pernambuco.

SILVEIRA, A. C. Controle da esquistossomose no Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 84, supl. I: 51-102, 1989.

SILVEIRA, J. Esquistossomose do pulmão e tuberculose pulmonar. *Imprensa Médica*, 20: 44-58, 1944.

SIONGOK, T. R. A. et al. Morbidity in schistosomiasis mansoni in relation to intensity of infection: study of a community in Machakos, Kenya. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 25: 272-284, 1976.

SIRRY, A. Radiological study of bilharzial cor pulmonale. *The Journal of the Egyptian Medical Association*, 31: 146-177, 1948.

SLOAN, B. S. et al. Schistosomiasis masquerading as carcinoma of the breast South. *Medical Journal*, 85: 345-347, 1996.

STUMP, X. M. G. R. G. Esquistossomose: forma pseudotumoral e craniofaringeoma. *Revista da Imagem*, 5: 84-86, 1983.

SYMMERS, W. S. C. Notes on a new form of liver cirrhosis due to the presence of the ova of bilharzia hematobia. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, 9: 237-239, 1904.

TAI, T. Y. et al. Typhoid and paratyphoid fevers occuring in cases of schistosomiasis. *Chinese Medical Journal*, 76: 426-436, 1955.

TAVARES, A. S. Aspectos anátomo-clínicos da schistosomose. *Brazil-Médico*, 49: 36-37, 1935.

TAVARES-NETO, J. *Marcadores Sorológicos das Hepatites B e C em Residentes de Área Endêmica da Esquistossomose Mansônica*, 1997. Tese de Doutorado, Salvador: Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia.

TAVARES-NETO, J. & PRATA, A. Family occurence of schistosomal hepatesplenomegaly and maternal effects. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 22(1): 13-18, 1989a.

TAVARES-NETO, J. & PRATA, A. Coeficiente de endocruzamento em portadores de esquistossomose mansônica. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 22: 45-49, 1989b.

TAVARES-NETO, J. & PRATA, A. Forma hepatoesplênica da esquistossomose mansônica, em relação à composição racial e nível sócio-econômico, em Catolândia, Bahia. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 23: 9-14, 1990.

TEIXEIRA, R. Typhoid fever of proetrated course. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 2: 65-70, 1960.

TEIXEIRA, R. Associação de infecção por *S. mansoni* e bacteremia prolongada por enterobactérias. In: CEDRE (Org.) *Aspectos peculiares da Infecção por* Schistosoma mansoni. Salvador: Centro Editorial e Didático da Universidade Federal da Bahia, 1984.

TEIXEIRA, R. Enterobacteriose septicêmica prolongada. In: VERONESI, R. & FOCACCIA, R. *Tratado de Infectologia*. São Paulo: Atheneu, 1996

TEIXEIRA, R. et al. Septicemia prolongada por bactéria Gram negativa do gênero Escherichia em pacientes com esquistossomose mansônica. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 6: 411, 1972.

TEIXEIRA, R. et al. *Schistosoma mansoni* is associated with pyogenic liver abscesses in the State of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96, supl.: 143-146, 2001.

TEIXEIRA, R. S. *Estudo Clínico de Casos de Febre Tifóide Prolongada*, 1959. Tese de Doutorado, Salvador: Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia.

TIBIRIÇÁ, P. Q. T. Concomitância do lymphogranuloma venéreo e da schistosomose nas retites estenosantes. *Arquivos de Cirurgia Clinica e Experimentaler*, 2: 62, 1938.

TURCATO JR., G. et al. Esquistossomose mansônica disseminada em paciente com síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 20, supl.: 23, 1987.

TWEARDY, D. J. et al. Failure of immunosuppressive mechanisms in human *Schistosoma mansoni* infection with hepatosplenomegaly. *Journal of Clinical Microbiology*, 25: 768-773, 1987.

VALLADARES, A. P. Doença de Manson-Pirajá da Silva. In: *A Margem da Clínica (Ensaios e Análises)*. Salvador: Imprensa Oficial, 1919.

VALLADARES, C. P. *Determinações Intestinais na Doença de Manson-Pirajá da Silva*, 1953. Tese de Doutorado, Salvador: Universidade Federal da Bahia.

VINHAES, L. S. A. et al. A circulação pulmonar na síndrome de hipertensão portal esquistossomótica. Interrelações radiológico-hemodinâmicas. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 30: 13-18, 1977.

WARREN, K. S. Regulation of the prevalence and intensity of schistosomiasis in man: immunology or ecology. *The Journal of Infectious Diseases*, 127: 595-609, 1973.

WARREN, K. S. The relevance of schistosomiasis. *The New England Journal of Medicine*, 303: 203-206, 1980.

WARREN, K. S. & NEWILL, V. A. *Schistosomiasis*: *a bibliography of the world's literature from 1852 to 1962*. Cleveland: The Press of Western Reserve University, 1967.

WESSEL, H. U. et al. Variants of cardiopulmonary manifestations of Manson's schistosomiasis. *Annals of Internal Medicine*, 62: 757-766, 1965.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Control de la esquistosomiasis, 1985a. (Informe Técnico, 728)

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Report of an Expert Committee*. Geneva: WHO, 1985b. (Technical Report Serial, 728)

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Meeting on Ultrasonography in Schistosomiases: proporal for a practical guide to the standardized use of ultrasonography in the assessment of pathological changes*. Cairo: WHO, 1991.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Niamey Working Group. Ultrasound in schistosomiasis: a practical guide to the standardized use of ultranosography for the assesment of schistosomiasis-related morbidity. In: SECOND INTERNATIONAL WORKSHOP, 2, 1996, Niamey. *Anais*... Niamey, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Ultrasound in schistosomiasis: a practical guide to the standardized use of ultranosography for the assesment of schistosomiasis-related morbidity In: SATELLITE SYMPOSIUM ON ULTRASOUND METHODOLOGY IN *Schistosoma mansoni* INFECTION, 1997, Belo Horizonte. *Anais*... Belo Horizonte, 1997.

WYLER, D. J.; WAHL, S. M. & WAHL, L. M. Hepatic fibrosis in schistosomiasis: egg granulomas secrete fibroblast stimuling factor in vitro. *Science*, 202: 438-440, 1978.

YOUNG, S. W. et al. Interaction of Salmonella and schistosomes in host-parasite relations. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 67: 797-802, 1973.

ZWINGENBERGER, K. et al. Release of interleukin 2 and gama interferon by peripheral blood mononuclear cells in human *Schistosoma mansoni* infection normalizes after chemotherapy. *Scandinavian Journal of Immunology*, 30: 463-471, 1989.

26 Esquistossomose e Doenças Associadas

José Roberto Lambertucci
Luciana Cristina dos Santos Silva
Izabela Voieta

Macrófago fagocitando bactérias.

A esquistossomose mansoni tem papel especial no desenvolvimento de infecções bacterianas e no agravamento de outras doenças infecciosas. Durante o curso desta helmintíase, há imunomodulação da resposta imune do hospedeiro, com variação na ocorrência da resposta 'T helper 1' (Th1) e 'T helper 2' (Th2), levando à formação de granuloma, eosinofilia, hipersecreção de IgE e aumento da susceptibilidade a infecções bacterianas e fúngicas.

A associação entre *Schistosoma mansoni* e a infecção por Gram-negativos encontra-se bem documentada, e há evidências da importância do verme em infecções estafilocócicas, incluindo o desenvolvimento de abscessos hepáticos piogênicos. As co-infecções *S. mansoni*-hepatites B ou C e *S. mansoni*-HIV têm sido mais recentemente estudadas, assim como a modificação das manifestações alérgicas em pacientes infectados pelo verme.

RESPOSTA TH1/TH2

O padrão de produção de citocinas pelos linfócitos T helper 1 e 2 (Th1 e Th2) foi originalmente descrito em clones de células T-CD4+ de camundongos e posteriormente em células humanas. Linfócitos Th1 produzem interleucina-2 (IL-2), interferon-gama (IFN-γ) e linfotoxina (LT), ao passo que células Th2 produzem IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 e IL-13 (Mosmann & Sad, 1996).

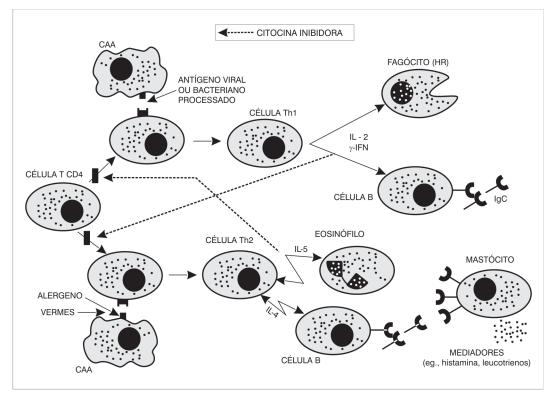
A principal citocina efetora Th1, IFN-γ, tem duas funções-chave. Primeiramente, ativa os macrófagos, potencializando sua ação microbicida. Em segundo lugar, o IFN-γ estimula a produção de anticorpos IgG que se ligam a receptores Fc[3] de alta afinidade e a proteínas do parasito, e representam portanto os principais anticorpos envolvidos na opsonização e fagocitose de microorganismos. A resposta imune dominante do sistema Th1 se associa freqüentemente a inflamação e lesão tecidual devido ao recrutamento e ativação de leucócitos inflamatórios por TNF-β e IFN-γ. A reação inflamatória típica, tipo hipersensibilidade retardada, é geralmente o preço a ser pago pela proteção imunológica contra microorganismos como as micobactérias. Algumas células Th1 adquirem capacidade citolítica, e as citocinas produzidas, especialmente IL-2 e IFN-γ, promovem a diferenciação dos linfócitos CD8 em células citotóxicas ativas.

As citocinas mais marcantes do sistema Th2 são IL-4 e IL-5. A IL-4 constitui-se na maior indutora de produção de IgE pelas células B, sendo assim a desencadeadora das reações mediadas por mastócitos. A IL-5 é a principal citocina ativadora de eosinófilos, e camundongos com deficiências desta citocina mostram defeitos na resposta anti-helmíntica. A produção destas duas citocinas pelo mesmo sistema imunológico se traduz na concomitância freqüente de IgE e eosinófilos ativados nas reações imunes dominadas pelas células Th2, como nas alergias e infecções helmínticas. Torna-se importante salientar que várias citocinas produzidas pelas células Th2 têm ações antiinflamatórias. IL-4 e IL-13 antagonizam-se com a ação ativadora de macrófagos do IFN-γ; IL-10 suprime diversas respostas dos macrófagos; e TGF-β é antiproliferativo e inibe a ativação de leucócitos. Desta forma, o resultado da ativação de Th2 é a inibição da inflamação aguda e crônica, incluindo reações de hipersensibilidade retardada (Figura 1). Estes fatos sugerem a hipótese de que o sistema Th2 agiria menos como efetor e mais como regulador das respostas imunológicas (Mosmann & Sad, 1996; Kolmer & Platts-Mills, 1995; Allen & Maizels, 1996).

O equilíbrio entre as respostas Th1 e Th2 a um agente infeccioso pode influenciar tanto o crescimento do patógeno quanto a sua imunopatologia. Reconhece-se hoje que a resistência a vários organismos intracelulares, incluindo bactérias, protozoários e fungos, encontra-se ligada à indução da resposta Th1 e, em particular, às citocinas ativadoras de macrófagos, IFN-γ e TNF-α. Em contraste com os microorganismos intracelulares, os patógenos extracelulares, particularmente helmintos, desencadeiam típicas respostas do tipo Th2, que podem ser lesivas ao hospedeiro, contribuindo para a formação de granulomas, hipereosinofilia e superinfecção por bactérias e/ou fungos.

Reações alérgicas envolvendo IgE e mastócitos são secundárias ao desenvolvimento e ativação de células Th2 alérgeno-específicas. Indivíduos com atopia grave têm altos títulos de IgE sérica total e alérgeno-específica (Kolmer & Platts-Mills, 1995).

A síndrome hiper-IgE, como originalmente descrita por Buckley, Wray & Belmaker (1972), consistia em susceptibilidade a infecções, particularmente estafilocócicas, e níveis extremamente altos de IgE sérica (> 2.000 ng/ml). Posteriormente foi demonstrado que pessoas com esta desordem têm também um defeito quimiotáxico nos neutrófilos, que poderia se atribuir a uma propriedade inibitória da quimiotaxia pela histamina.

Figura 1 – O delicado equilíbrio da resposta imunológica Th1/Th2 do hospedeiro. Em indivíduos alérgicos ou com infecção por helmintos há predomínio da resposta imune Th2 com eosinofilia e hiperimunoglobulinemia E. A imunoglobulina E (IgE) induz a liberação de mediadores que causam prurido (histamina, leucotrienos). Quando as citocinas Th2 são ativadas, elas inibem o braço Th1 do sistema imune. CCA: célula apresentadora de antígenos; HR: hipersensibilidade retardada; IL-2: interleucina-2; γ-IFN: gama-interferon; IL-5: interleucina-5; IL-4: interleucina-4

Fonte: Lambertucci et al. (2001).

A associação entre infecção e atopia tem sido exaustivamente investigada. Pacientes com dermatite atópica têm altas taxas de colonização por bactérias patogênicas. Por exemplo, *Staphylococcus aureus*, encontrado em 5% dos indivíduos-controle, pode ser isolado da pele anormal em mais de 90% dos pacientes com dermatite atópica (Hanfin & Rogge, 1977; Berger et al., 1980).

As parasitoses compartilham algumas características das doenças alérgicas. Na esquistossomose aguda há um estado de hipersensibilidade evidenciada por manifestações cutâneas pruriginosas (dermatite cercariana, angioedema, urticária) e dados laboratoriais (eosinofilia e elevação do nível sérico de IgE).

ESTAFILOCOCCIA E ABSCESSO HEPÁTICO PIOGÊNICO

Abscessos hepáticos bacterianos são relativamente incomuns em países desenvolvidos, a despeito da ocorrência freqüente de colecistite, apendicite e diverticulite, fontes comuns de infecção bacteriana para o fígado.

Antes dos antimicrobianos, a apendicite, com semeadura bacteriana do fígado através da veia porta, era causa freqüente daqueles abscessos. Abscessos hepáticos piogênicos secundários a doenças intestinais são bem reconhecidos em pacientes com uma variedade de afecções, incluindo doença de Crohn e diverticulite. Traumas penetrantes do fígado também podem iniciar abscessos. O abscesso piogênico do fígado é geralmente polimicrobiano. Bacilos entéricos Gram-negativos, usualmente *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus fecalis* e *Proteus vulgaris* têm sido obtidos da maioria das culturas destas coleções (McDonald et al., 1984). Abscessos hepáticos por *Staphylococcus aureus* encontram-se geralmente associados a microabscessos em outros órgãos, como parte da disseminação hematogênica generalizada em pessoas com deficiência da resposta imune.

Graham & Orr (1950) descreveram o caso de um oficial do exército inglês que desenvolveu um abscesso hepático por *S. aureus* associado à esquistossomose, e sugeriram que o dano hepático causado pela helmintíase poderia ter aberto o caminho para uma infecção piogênica secundária (Figuras 2, 3, 4). A esquistossomose aguda foi implicada na gênese de abscessos piogênicos e da infecção estafilocócica (Pearce et al., 1991; Lima & Maluf, 1995; Teixeira et al., 1996). Lambertucci et al. (1990) descreveram os casos de duas crianças com pústulas cutâneas e esquistossomose aguda, que também desenvolveram abscessos hepáticos por *S. aureus*.

Figura 2 – Tomografia computadorizada do abdômen. A seta preta aponta a presença de abscesso hepático por estafilococos em paciente com esquistossomose. B = baço

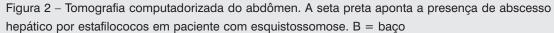
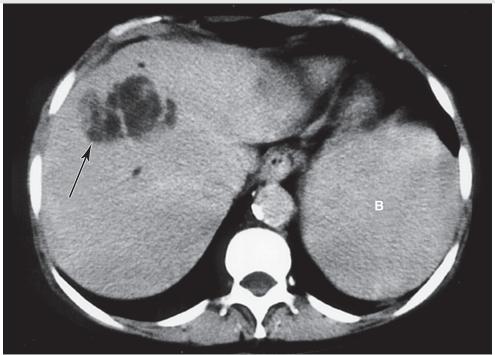



Figura 3 – Drenagem de abscesso hepático por punção percutânea com agulha grossa

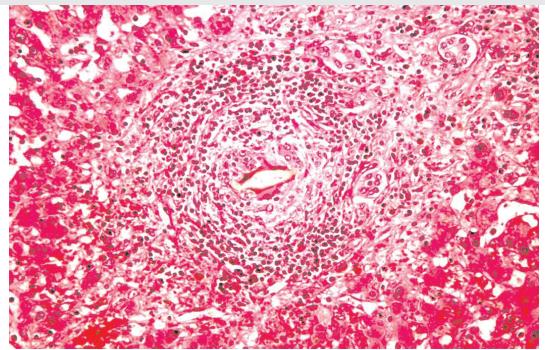
Figura 4 – Granuloma com ovo de *Schistosoma mansoni* no centro em fragmento de biópsia hepática do paciente mostrado na Figura 2

Em um modelo experimental, Lambertucci et al. (2001) mostraram que 77% dos camundongos co-infectados por *S. mansoni* e *S. aureus* desenvolveram múltiplos abscessos hepáticos, ao passo que nenhuma lesão piogênica foi detectada no fígado dos animais-controle, infectados exclusivamente por *S. mansoni* ou exclusivamente por *S. aureus* ou sem nenhuma das duas infecções (Figura 5).

Figura 5 – Verme adulto de *Schistosoma mansoni* morto no fígado de camundongo infectado com *Staphylococcus aureus* (setas pequenas). A seta maior aponta colônias de *Staphylococcus aureus* em torno do verme

Os prontuários médicos de cinqüenta pacientes com abscesso hepático piogênico, admitidos em três hospitais gerais de Belo Horizonte, Minas Gerais, durante um período de dez anos, foram analisados retrospectivamente por Lambertucci et al. (1991). Avaliaram-se informações demográficas, queixas principais, achados clínicos e laboratoriais e resposta terapêutica. A idade dos pacientes variou de dois a 79 anos (41% eram menores de 15 anos). As principais queixas iniciais foram febre e dor abdominal. Observou-se eosinofilia em 15 casos (30%). Realizou-se o exame parasitológico das fezes em 28 pacientes e, em 20 (71%), os seguintes agentes foram encontrados: *S. mansoni* (36%), *Strongyloides stercoralis* (21%), *Ascaris lumbricoides* (18%), *Entamoeba histolytica* (4%). A ultra-sonografia abdominal teve papel fundamental no diagnóstico e tratamento do abscesso hepático, identificando e orientando a drenagem percutânea das coleções (Figura 3). Cultura do material obtido por cirurgia ou aspirado percutâneo em trinta pacientes mostrou: *S. aureus* (14 casos), *S. viridans* (dois casos), bactérias Gram-negativas (cinco casos), associação de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (dois casos). Dois entre cinco pacientes submetidos à biópsia hepática apresentaram o granuloma necrótico exsudativo da esquistossomose. Os autores concluíram que a esquistossomose e as larvas migrantes de outras parasitoses (*A. lumbricoides*, *S. stercoralis*, *Toxocara*) podem ser um fator predisponente ao desenvolvimento de abscesso hepático piogênico.

Sugerem-se algumas possíveis explicações para a associação de esquistossomose e abscesso hepático piogênico (Lambertucci et al., 1990, 1997, 1998; Lambertucci, 1993, 1996; Mahmoud & Awad, 2000):

- a necrose hepática causada pelos ovos ou vermes mortos de *S. mansoni* poderia ser colonizada pela bactéria;
- há uma deficiência transitória da imunidade celular na fase aguda da esquistossomose em modelos animais (Araújo et al., 1977);
- há vários relatos, na literatura, de casos de infecção recorrente por *S. aureus* na presença de altos níveis séricos de IgE (Lambertucci, 1996; Galandiuk, Gardner & Heinzelmann, 1995), e altos níveis de IgE têm sido identificados na esquistossomose aguda.

Atualmente, em países desenvolvidos, abscessos hepáticos piogênicos são mais freqüentemente descritos em adultos ou indivíduos mais velhos, particularmente naqueles com doença obstrutiva do tracto biliar, que favorece a infecção bacteriana. Em algumas áreas do Brasil, entretanto, abscessos piogênicos do fígado têm sido mais freqüentemente observados em jovens abaixo dos 15 anos de idade, e *S. aureus* tem sido a principal bactéria obtida de aspirados destes abscessos (Lambertucci et al., 2001, 1998; Lambertucci, 1993, 1996), o que pode se justificar pelos altos níveis de infecção esquistossomótica e por outras parasitoses com larvas migrantes.

ENTEROBACTÉRIAS

Bacteriemia persistente por *Salmonella* tem sido descrita em associação com a infecção por *S. mansoni* (Neves & Martins, 1967; Salih et al., 1977). Doença febril indolente, bacteriemia por uma das várias espécies do gênero *Salmonella* e esquistossomose crônica ativa mostram-se como as características mais comuns desta síndrome clínica (Lambertucci et al., 2000). Ela acomete homens de idade entre dez e trinta anos. As queixas geralmente consistem em fadiga, astenia, perda de peso e febre. Mesmo com a bacteriemia instalada há vários meses, os pacientes não se revelam toxêmicos. Hepatoesplenomegalia tem sido descrita na maioria dos casos, mesmo nos pacientes com a forma intestinal da esquistossomose. Edema e petéquias de membros inferiores são comuns. Infecções localizadas, como a osteomielite na anemia falciforme, e colecistite crônica, não ocorrem. As características clínicas de tal associação peculiar têm sido descritas como mais semelhantes ao calazar do que à febre tifóide (Lambertucci et al., 1991).

Salmonella é facilmente identificada no sangue; em 25% dos casos ela tem sido isolada também em fezes ou urina. O teste de Widal, positivo em 25% dos casos, não auxilia no diagnóstico da síndrome (Lambertucci et al., 1985). A eosinofilia aumenta após antibioticoterapia.

A bactéria se aloja no tegumento ou no trato intestinal de vermes adultos de *S. mansoni*. O papel do esquistossomo como fonte e veículo de infecção por *Salmonella* tem sido sugerido (Lo Verde, Amento & Higashi, 1980), e foi descrita a redução de anticorpos contra *S. typhi* e *S. cholerasuis* no soro de pacientes com esquistossomose hepatoesplênica quando comparados a controles normais (Rocha, Kirk & Heary, 1971; Muniz-Junqueira et al., 1996).

Quando diagnosticada a bacteriemia adequadamente, a mortalidade é baixa e a resposta terapêutica, eficaz. Entretanto, bacteriemia recorrente por *Salmonella* mostra-se comum quando a doença esquistossomótica

de base não é tratada. O tratamento eficaz da esquistossomose com esquistossomicidas priva a *Salmonella* de seu foco favorável de crescimento e elimina ambas as infecções em mais de 90% dos casos (Lambertucci et al., 1985) (Figura 6).

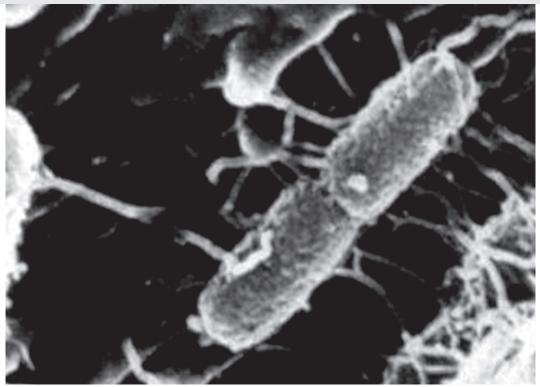



Figura 6 – Microscopia de varredura mostra salmonela na cutícula do verme (*Schistosoma mansoni*)

Observa-se freqüentemente o envolvimento renal em pacientes com a associação *S. mansoni-Salmonella*. Pelo menos dois padrões clínicos e histológicos de acometimento renal foram descritos. Barsoum et al. (1977), no Egito, categorizaram seus casos positivos para *Salmonella* em dois grupos:

- aqueles com evidências clínicas, laboratoriais e histológicas de nefropatia intersticial, sem envolvimento glomerular, que provavelmente resultaram de pielonefrite por *Salmonella* – estes achados não foram confirmados por um estudo brasileiro (Lambertucci et al., 1988), e antes de aceitá-lo seria desejável se definir a importância da infecção concomitante por *S. haematobium* nos achados patológicos relatados em pacientes egípcios;
- aqueles com doença glomerular sobreposta, geralmente glomerulonefrite proliferativa com ausência ou mínimo espessamento da membrana basal, manifestada clinicamente por síndrome nefrítica (Lambertucci et al., 1988).

Também tem sido descrita a associação entre *S. mansoni* e *Escherichia coli* (Teixeira, Bina & Barreto, 1976; Farid, Trabolsi & Hafez, 1984). Após alguns meses de ataques febris o tratamento com co-trimoxazole ou amoxicilina seguido de drogas esquistossomicidas resultou em cura. Rocha, Motta & Rebouças (1968)

inocularam *E. coli* em camundongos previamente infectados por *S. mansoni* e observaram bacteriemia e abscessos hepáticos no grupo experimental. A formação dos abscessos foi interpretada como secundária em relação à colangite supurativa.

Já que a maioria das bactérias Gram-negativas parasita e mata os esquistossomos, não se espera um aumento no número de casos de bacteriemia por outros Gram-negativos além de *Salmonella* (Ottens & Dickerson, 1972).

HEPATITES VIRAIS

Hepatite B

Nos pacientes com esquistossomose hepatoesplênica observou-se maior prevalência do antígeno de superfície da hepatite B do que em pessoas com outras formas da esquistossomose ou indivíduos sem a infecção helmíntica (Lambertucci, 1993).

Reconhece-se que a infecção esquistossomótica sozinha não produz cirrose ou hepatite crônica ativa. Sugeriu-se que a interação entre o vírus da hepatite B (VHB) e a infecção por *S. mansoni* poderia se associar à doença hepática crônica mais grave (Bassily et al., 1979). Estudos com biópsia hepática revelaram aumento significativo de hepatite crônica e descompensação hepática em indivíduos infectados por *S. mansoni* (Lyra, Rebouças & Andrade, 1976; Chen & Mott, 1988). Os pacientes com *S. mansoni*-hepatite B desenvolvem mais freqüentemente icterícia, ascite refratária e falência hepática. Seu manejo clínico é mais difícil e o prognóstico mais reservado que na esquistossomose hepatoesplênica crônica exclusiva.

Alguns argumentos procuram justificar a associação entre *S. mansoni* e a hepatite B:

- imunossupressão celular resultante da infecção esquistossomótica (Lyra, Rebouças & Andrade, 1976; Colley et al., 1986);
- baixos níveis socioeconômico e educacional, que aumentam o risco de exposição;
- tratamentos freqüentes com drogas endovenosas ou hemotransfusões (Madwar, El-Tahawy & Strickland, 1989).

A associação entre *S. mansoni* e hepatite B tem sido questionada por alguns investigadores (Serufo et al., 1997). Domingo et al. (1983) não encontraram diferença na exposição ao VHB e na positividade para o antígeno de superfície da hepatite B entre indivíduos infectados por *S. japonicum*, incluindo formas hepatoesplênicas, e pessoas sem esquistossomose, em população não hospitalar. A falta de associação entre a esquistossomose mansoni e a hepatite B também foi relatada no Egito (Hyams et al., 1986; Eltoum et al., 1991).

Em resumo, em estudos hospitalares, o estado de portador do VHB em pacientes com esquistossomose hepatoesplênica mostrou-se maior que em indivíduos-controle. Entretanto, em estudos de campo, a associação entre estes organismos não foi encontrada (Serufo et al., 1997). Futuras observações, com estudos bem delineados, serão necessárias para o esclarecimento desta controvérsia.

Hepatite C

Hepatite C e esquistossomose estão associadas à inflamação hepática, mas são caracterizadas por mecanismos imunológicos diferentes. A esquistossomose, como muitas doenças parasitárias,

caracteriza-se por resposta predominante do tipo Th2, associada a granulomas hepáticos. Na hepatite C a resposta é do tipo Th1, induzindo dano hepático e clareamento viral (Sobue et al., 2001). O resultado final é, portanto, morfológica e funcionalmente diferente (Blanton et al., 2002).

A esquistossomose produz um padrão distinto de fibrose hepática que segue os tratos portais, o que resulta em distensão venosa e hipertensão portal, com função hepática intacta. Em contraste, a hepatite C associa-se a cirrose (destruição de células hepáticas, desorganização da arquitetura e função, hipertensão portal) e carcinoma hepatocelular.

A co-infecção esquistossomose-hepatite C mostra-se comum no Egito (Kamel et al., 1994; Angelico et al., 1997), no Brasil e em outros países em desenvolvimento (Pereira et al., 1995).

Em estudo prospectivo realizado no Egito (Kamal et al., 2000), demonstrou-se que pacientes com hepatite C e infecção por *S. mansoni* apresentam doença hepática mais avançada, títulos mais elevados de HCV RNA, predominância do genótipo 4 e atividade histológica mais elevada. Houve também quadro de progressão para cirrose, carcinoma hepatocelular e mortalidade mais alta durante o seguimento. A esquistossomose parece também diminuir a eficácia do interferon-alfa no tratamento da hepatite C (Blanton et al., 2002). Pacientes co-infectados apresentaram níveis séricos de citocinas do tipo Th2 (IL-10 e IL-4) mais elevados, níveis mais baixos de citocinas do tipo Th1 (IFN-γ) e níveis mais baixos de células T-CD4 específicas para o HCV, em comparação com os indivíduos com infecção somente pelo vírus da hepatite C (Kamal et al., 2001).

Um estudo de corte transversal no Egito demonstrou o efeito da co-infecção por *S. mansoni* e vírus da hepatite C na diferenciação e manutenção da memória das células T específicas do HCV (Elrefaei et al., 2003). Os fatores que influenciam a geração e manutenção de células de memória T-CD8+ não estão completamente entendidos. A homeostase da memória das células T é dinâmica e regulada por vários estímulos, incluindo citocinas e antígenos de histocompatibilidade maior (MHC). Observou-se significativa redução das células de memória T-CD27 e T-CD28 (diferenciação tardia) nos indivíduos co-infectados, comparados àqueles com infecção somente pelo HCV. Em contraste, não houve diferença significativa nas células T-CD27+/T-CD28+ (diferenciação precoce), que são específicas do HCV, entre os dois grupos. Estes achados podem contribuir para entender as diferenças observadas na maturação da memória viral específica e na replicação viral (Ahmed & Gray, 1996; Appay et al., 2002; Lieberman, Manjunath & Shankar, 2002), assim como na patogênese viral (Elrefaei et al., 2003).

A associação entre hepatite C e esquistossomose merece maiores investigações para melhores esclarecimentos no que diz respeito às alterações imunológicas e à evolução, prognóstico e tratamento. Vale lembrar que o genótipo HCV mais comum no Egito é o 4, diferentemente dos países ocidentais e do Japão. No Brasil, o genótipo 1 é o mais prevalente, devendo ser avaliada em nosso meio a importância deste genótipo na co-infecção com *S. mansoni*.

HIV

O conhecimento acumulado sobre a imunologia da infecção por *S. mansoni* e dos efeitos do HIV no sistema imune prenunciavam a provável interação entre as duas infecções. A infecção pelo HIV causa falência progressiva do sistema imune, com queda gradual dos linfócitos CD4 e comprometimento da imunidade celular. A resposta Th2 encontra-se reduzida em pacientes esquistossomóticos portadores do HIV (Mwinzi et al., 2001).

É possível considerar várias áreas de interesse clínico neste novo cenário (Lambertucci & Neves, 1993):

- A depressão da imunidade celular no hospedeiro reduz a resposta granulomatosa aos ovos de *S. mansoni*. Camundongos infectados experimentalmente com *S. mansoni* e imunossuprimidos por drogas ou timectomia desenvolveram hepatite difusa e grave. Climent et al. (1994) relataram os achados histopatológicos de necropsias de cem pacientes com Aids que morreram em Porto Rico de 1982 a 1991. Dez dos cem pacientes tinham esquistossomose mansoni e todos mostravam reação tecidual granulomatosa ou inflamatória mínima. Lambertucci & Neves (1993) relataram completa ausência de resposta granulomatosa aos ovos e necrose hepática grave em um paciente que havia morrido com a associação *Salmonella-S. mansoni* e no qual se identificou também, após a necropsia, tuberculose disseminada e ovos de *S. mansoni* distribuídos em vários órgãos. A migração dos vermes a diferentes órgãos do corpo humano poderia explicar o achado de um grande número de ovos em localizações não usuais. Esta hipótese implica que o sistema imune mostra-se importante no confinamento dos vermes adultos de *S. mansoni* nos vasos mesentéricos. O papel da resposta imunológica dos linfócitos T-CD4 na reinfecção por *S. mansoni* foi avaliado por Karanja et al. (2002) em população altamente exposta à esquistossomose no Quênia. Portadores do HIV com baixas contagens de CD4 mostraram maior suscetibilidade à reinfecção pelo verme.
- Lambertucci, Rayes & Gerspacher-Lara (1998) descreveram os casos de dois jovens com bacteriemia por *Salmonella*, esquistossomose ativa e síndrome da imunodeficiência adquirida (Aids). A sua apresentação clínica compreendia sinais e sintomas não específicos, como fadiga, astenia, perda de peso, diarréia, febre prolongada e hepatoesplenomegalia. Em um dos pacientes, a biópsia hepática mostrou granulomas mal-formados circundando ovos de *S. mansoni* e hepatite moderada. O tratamento exclusivo da esquistossomose induziu melhora clínica consistente, com cura eventual tanto da infecção por *Salmonella* quanto por *S. mansoni*. O reconhecimento da associação entre *Salmonella* e *S. mansoni* em pacientes com Aids não deve ser fácil, porque a apresentação clínica (diarréia, febre prolongada, hepatoesplenomegalia e perda de peso) é também descrita em pacientes exclusivamente portadores de Aids. O diagnóstico da associação entre as duas infecções mostra-se importante porque o tratamento da esquistossomose altera completamente o curso da doença, melhorando o prognóstico desta bacteriemia que, de outra forma, seria fatal. Nobre et al. (2003), ao estudarem vinte pacientes com Aids necropsiados, encontraram dois pacientes com esquistossomose disseminada associada à tuberculose miliar. Em um desses dois pacientes havia perfuração intestinal atribuída à tuberculose. Os autores observaram ainda a presença de ovos em vários órgãos e nos dois casos os ovos não eram circundados por granulomas. Em um deles o exame das fezes não revelou ovos de *S. mansoni*.
- A eliminação de ovos se reduz drasticamente em camundongos experimentalmente infectados com *S. mansoni* e imunossuprimidos por drogas ou timectomia (Doenhoff et al., 1986). O granuloma bem formado facilita a migração dos ovos nos tecidos do hospedeiro. Sem a formação do granuloma, os ovos de *S. mansoni* não atingem (ou o fazem apenas em pequeno número) o lúmen intestinal. O diagnóstico da esquistossomose, baseado no exame parasitológico de fezes, neste contexto, deve ser revisto. Biópsia retal ou hepática, e teste de Elisa para antígenos circulantes devem representar alternativas ao exame parasitológico de fezes, nestes casos. Estudos em pacientes com Aids e baixa contagem de células CD4 são necessários para se avaliar melhor esta hipótese.

- A eficácia dos esquistossomicidas mostra-se reduzida em camundongos infectados por *S. mansoni* e imunossuprimidos por timectomia (Lambertucci, Moda & Doenhoff, 1989; Doenhoff et al., 1991). Falência da resposta ao oxamniquine ou ao praziquantel, em doses usuais, é esperada no hospedeiro imunossuprimido infectado por *S. mansoni*.

Lawn et al. (2000) não observaram redução da carga viral plasmática em pacientes co-infectados por *S. mansoni* e HIV após o tratamento com praziquantel. Entretanto, estes achados não se correlacionaram à progressão clínica da doença esquistossomótica ou da infecção pelo HIV. Apesar de o tratamento da helmintíase não ter se associado à redução da carga viral do HIV, o estudo não exclui a possibilidade de um efeito adverso da infecção helmíntica na patogênese do HIV. Dessa forma, os autores recomendam que o diagnóstico e o tratamento da esquistossomose sejam feitos o mais brevemente possível nestes pacientes, a fim de se evitar o desenvolvimento de formas crônicas da helmintíase e doença grave, a qual, por sua vez, reduziria ainda mais os níveis de CD4 (Colley et al., 1983; Kalinkovich et al., 1998).

ATOPIA E ASMA

A atopia se caracteriza pelo aumento dos níveis séricos de IgE total e específica para alérgenos ambientais comuns, e pela evidência *in vivo* de hipersensibilidade imediata mediada pela IgE (Burrows et al., 1989). A resposta alérgica encontra-se diminuída nas infecções helmínticas. Apesar de o mecanismo da redução da resposta aos alérgenos não ter sido identificado, especula-se que os altos níveis de IgE, o bloqueio do Fc dos mastócitos pela IgE policlonal e as altas concentrações de IgG antígeno-específico possam participar deste fenômeno (Hussain, Poindexter & Ottensen, 1992; Araújo et al., 1996; King, Medhat & Malhotra, 1996; Linch et al., 1998; Weiss, 2000). Entretanto, não há evidência de que as verminoses reduzam a prevalência da atopia, incluindo asma (Catapani et al., 1997; Medeiros et al., 2003).

Demonstrou-se associação inversa entre a positividade nos resultados do teste cutâneo para alérgenos da poeira doméstica e a carga parasitária de *S. mansoni* (Araújo et al., 2000). Estudo de Medeiros et al. (2003) demonstrou que pessoas asmáticas infectadas por *S. mansoni* apresentaram um curso mais leve da asma que controles asmáticos sem esquistossomose. Curiosamente, apesar de os vermes induzirem uma resposta Th2, tem sido demonstrado que oligossacarídeos têm papel importante neste fenômeno, por meio da indução da produção de IL-10. Estes oligossacarídeos são mais freqüentemente encontrados na infecção por *S. mansoni* que nas outras helmintíases (Velupillai et al., 2000; Royer et al., 2001). Uma vez que a esquistossomose se associa à grande produção de IL-10, a qual pode modular a reação de hipersensibilidade mediante redução da liberação de histamina pelos mastócitos, é possível que este mecanismo explique a menor resposta a alérgenos e o abrandamento do curso da asma nos esquistossomóticos. Estudos que identifiquem antígenos esquistossomóticos que possam funcionar como moduladores da resposta imunológica podem contribuir para a redução da morbidade das doenças atópicas.

REFERÊNCIAS

AHMED, R. & GRAY, D. Immunological memory and protective immunity: understanding their relation. *Science*, 272: 54-60, 1996.

ALLEN, J. E. & MAIZELS, R. M. Immunology of human helminth infection. *International Archives of Allergy and Immunology*, 109: 3-10, 1996.

ANGELICO, M. et al. Chronic liver disease in Alexandria governorate, Egypt: contribution of schistosomiasis and hepatitis virus infections. *Journal of Hepatology*, 26: 236-243, 1997.

APPAY, V. et al. Memory CD28^{+}T cells vary in differentiation phenotype in different persistent virus infections. *Nature Medicine*, 8: 379-385, 2002.

ARAÚJO, F. G. et al. *Schistosoma mansoni*: impairment of the cell- mediated immune response in mice. *Clinical and Experimental Immunology*, 28: 289-291, 1977.

ARAÚJO, M. I. et al. Evidence of a T helper type 2 activation in human schistosomiasis. *European Journal of Immunology*, 26: 1.399-1.403, 1996.

ARAÚJO, M. I. et al. Inverse association between skin response to aeroallergens and *Schistosoma mansoni* infection. *International Archives of Allergy and Immunology*, 123: 145-148, 2000.

BARSOUM, R. S. et al. Renal disease in hepatosplenic schistosomiasis: a clinicopathological study. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 71: 387-391, 1977.

BASSILY, S. et al. Chronic hepatitis B antigenaemia in patients with hepatosplenic schistosomiasis. *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 82: 248-251, 1979.

BERGER, M. et al. IgE antibodies to *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* in patients with the syndrome of hyperimmunoglobulin E and recurrent infection. *Journal of Immunology*, 125: 2.437-2.443, 1980.

BLANTON, R. et al. Population-based differences in *Schistosoma mansoni* and hepatitis C- induced disease. *The Journal of Venereal Disease Information*, 185: 1.644-1.649, 2002.

BUCKLEY, R. H.; WRAY, B. B. & BELMAKER, E. Z. Extreme hyperimmunoglobulinemia E and undue susceptibility to infection. *Pediatrics*, 49: 59-70, 1972.

BURROWS, B. et al. Association of asthma with serum IgE levels and skin-test reactivity to allergens. *The New England Journal of Medicine*, 320: 271-277, 1989.

CATAPANI, W. R. et al. Prevalence of allergic diseases in patients with schistosomiasis mansoni. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 100: 142, 1997.

CHEN, M. G. & MOTT, K. E. Progress in assessment of morbidity due to *Schistosoma mansoni* infection. *Tropical Diseases Bulletin*, 85: R1-R56, 1988.

CLIMENT, C. et al. Geographical pathology profile of AIDS in Puerto Rico: the first decade. *Modern Pathology*, 7: 647-651, 1994.

COLLEY, D. G. et al. Immune responses during human schistosomiasis mansoni. IX. T-lymphocyte subset analysis by monoclonal antibodies in hepatosplenic disease. *Scan Journal of Immunology*, 17: 297-302, 1983.

COLLEY, D. G. et al. Immune responses during human schistosomiasis. XII. Differential responsiveness in patients with hepatosplenic disease. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 35: 793-802, 1986.

DOENHOFF, M. J. et al. The schistosome egg granuloma: immunopathology in the cause of host protection or parasite survival? *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 80: 503-514, 1986.

DOENHOFF, M. J. et al. The immune dependence of chemotherapy. *Parasitology Today*, 7: 16-18, 1991.

DOMINGO, E. O. et al. HBV exposure and HBsAg positive rates in schistosomiasis japonica: study in a Philippine community endemic for both infections. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 14: 456-462, 1983.

ELREFAEI, M. et al. HCV-specific $CD27^-$ $CD28^-$ memory T cells are depleted in hepatitis C virus and *Schistosoma mansoni* co-infection. *Immunology*, 110: 513-518, 2003.

ELTOUM, I. A. et al. Lack of association between schistosomiasis and hepatitis B virus infection in Gezira-Managil area, Sudan. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 85: 81-82, 1991.

FARID, Z.; TRABOLSI, B. & HAFEZ, A. Escherichia coli bacteraemia in chronic schistosomiasis. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 78: 661-662, 1984.

GALANDIUK, S.; GARDNER, S. A. & HEINZELMANN, M. Constituent analysis may permit improved diagnosis of intra-abdominal abscess. *American Journal of Surgery*, 171: 335-339, 1995.

GRAHAM, J. G. & ORR, J. L. Hepatic abscess associated with visceral schistosomiasis. *The Lancet*, 1: 714-716, 1950.

HANFIN, J. M. & ROGGE, J. L. Staphylococcal infections in patients with atopic dermatitis. *Archives of Dermatology*, 113: 1.383-1.386, 1977.

HUSSAIN, R.; POINDEXTER, W. & OTTENSEN, E. A. Control of allergic reactivity in human filariasis. Predominant localization of blocking antibody to the IgG4 subclass. *Journal of Immunology*, 148: 2.731-2.737, 1992.

HYAMS, K. C. et al. Risk of hepatitis B infection among egyptians infected with *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 35: 1.035-1.039, 1986.

KALINKOVICH, A. et al. Decreased CD4 and increased CD8 counts with T cell activation is associated with chronic helminth infection. *Clinical and Experimental Immunology*, 114: 414-421, 1998.

KAMEL, M. A. et al. The epidemiology of *Schistosoma mansoni* hepatitis B and hepatitis C infection in Egypt. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 88: 501-509, 1994.

KAMAL, S. et al. Clinical, virological and histopathological features: long-turn follow-up in patients with chronic hepatitis C co-infected with *S. mansoni*. *Liver*, 20: 281-289, 2000.

KAMAL, S. et al. Acute hepatitis C without and with schistosomiasis: correlation with hepatitis C-specific CD4(+) T-cell and cytokine response. *Gastroenterology*, 121: 646-656, 2001.

KARANJA, D. M. S. et al. Resistance to reinfection with *Schistosoma mansoni* in occupationally exposed adults and effect of HIV-1 co-infection on susceptibility to schistosomiasis: a longitudinal study. *The Lancet*, 360: 592-596, 2002.

KING, C. L.; MEDHAT, A. & MALHOTRA, I.. Cytokine control of parasite-specific anergy in human urinary schistosomiasis. IL-10 modulates lymphocyte reactivity. *Journal of Immunology*, 156: 4.715-4.721, 1996.

KOLMER, H. L. & PLATTS-MILLS, T. A. E. Atopic dermatitis: new knowledge and new approaches. *Hospital Practice*, 30: 63-72, 1995.

LAMBERTUCCI, J. R. *Schistosoma mansoni*: pathological and clinical aspects. In: JORDAN, P.; WEBBE, G. & STURROCK, R. F. (Eds.) *Human Schistosomiasis*. Wallingford: Cab International, 1993.

LAMBERTUCCI, J. R. Hyperimmunoglobulinemia E, parasitic diseases and staphylococcal infection. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 29: 407-410, 1996.

LAMBERTUCCI, J. R. & NEVES, J. Associação *Salmonella-Schistosoma-Mycobacterium*: relato de um caso. *Arquivos Brasileiros de Medicina*, 67: 53-54, 1993.

LAMBERTUCCI, J. R.; MODA, J. & DOENHOFF, M. J. *Schistosoma mansoni*: the therapeutic efficacy of oxamniquine is enhanced by immune serum. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 83: 362-363, 1989.

LAMBERTUCCI, J. R.; RAYES, A. A. & GERSPACHER-LARA, R. *Salmonella-S. mansoni* association in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 40: 233-235, 1998.

LAMBERTUCCI, J. R. et al. The value of the Widal test in the diagnosis of prolonged septicemic salmonellosis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 27: 82-85, 1985a.

LAMBERTUCCI, J. R. et al. Therapeutic efficacy of oral oxaminiquine in the treatment of *Salmonella – S. mansoni* association. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 27: 33-39, 1985b.

LAMBERTUCCI, J. R. et al. Glomerulonephitis in *Salmonella – S. mansoni* association. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 38: 97-102, 1988.

LAMBERTUCCI, J. R. et al. Liver abscess and schistosomiasis. A new association. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 23: 239-240, 1990.

LAMBERTUCCI, J. R. et al. Associação *Salmonella – S. mansoni*: análise de 104 casos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 24, supl. 1: 76, 1991a.

LAMBERTUCCI, J. R. et al. Abscesso piogênico do fígado: análise de 50 casos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 24, supl. II: 83, 1991b.

LAMBERTUCCI, J. R. et al. Schistosomiasis and associated infections. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93, supl. 1: 135-139, 1998.

LAMBERTUCCI, J. R. et al. *Schistosoma mansoni*: assessment of morbidity before and after control. *Acta Tropica*, 71: 101-109, 2000.

LAMBERTUCCI, J. R. et al. Pyogenic abscesses and parasitc diseases. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 43: 67-74, 2001a.

LAMBERTUCCI, J. R. et al 1997. Acute schistosomiasis: report on five singular cases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92: 631-635, 2001b.

LAWN, S. D. et al. The effect of treatment of schistosomiasis on blood plasma HIV 1 RNA concentration in coinfected individuals. *Aids*, 14: 2.437-2.443, 2000.

LIEBERMAN, J.; MANJUNATH, N. & SHANKAR, P. Avoiding the kiss of death: how HIV and other chronic viruses survive. *Current Opinion in Immunology*, 14: 478-486, 2002.

LIMA, V. C. & MALUF, F. C. Schistosomiasis: predisposing cause for the formation of hepatic abscesses? *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 37: 277-280, 1995.

LINCH, N. R. et al. Relationship between helmintic infection and IgE response in atopic and nonatopic children in a tropical environment. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 101: 217-221, 1998.

LO VERDE, P. T.; AMENTO, C. & HIGASHI, G. I. Parasite-parasite interaction of *Salmonella typhimurium* and *Schistosoma*. *The Journal of Venereal Disease Information*, 141: 177-185, 1980.

LYRA, G. L.; REBOUÇAS, G. & ANDRADE, Z. A. Hepatitis B surface antigen carrier state in hepatosplenic schistosomiasis. *Gastroenterology*, 71: 641-645, 1976.

MADWAR, M. A.; EL-TAHAWY, M. & STRICKLAND, G. T. The relationship between uncomplicated schistosomiasis and hepatitis B infection. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 83: 233-236, 1989.

MAHMOUD, M. S. & AWAD, A. A. A study of the predisposition of schistosomiasis mansoni to pyogenic liver abscess in experimentally infected mice. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 30: 277-286, 2000.

MCDONALD, M. I. et al. Single and multiple pyogenic liver abscesses. *Medicine*, 63: 291-302, 1984.

MEDEIROS JR., M. et al. *Schistosoma mansoni* infection is associated with a reduced course of asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 111: 947-951, 2003.

MOSMANN, T. R. & SAD, S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunology Today*, 17: 138-146, 1996.

MUNIZ-JUNQUEIRA, M. et al. Antibodies response to *Salmonella typhi* in human schistosomiasis mansoni. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 29: 441-445, 1996.

MWINZI, P. N. M. et al. Cellular immune responses of schistosomiais patients are altered by human immunodeficiency virus type 1 coinfection. *The Journal of Venereal Disease Information*, 184: 488-496, 2001.

NEVES, J. & MARTINS, N. R. L. L. Long duration of septicaemic salmonellosis: 35 cases with 12 implicated species of *Salmonella*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 61: 541-552, 1967.

NOBRE, V. et al. Opportunistic infections in patients with AIDS admitted to an University Hospital of the Southeast of Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 45: 69-74, 2003.

OTTENS, H. & DICKERSON, G. Studies on the effects of bacteraemia on experimental schistosoma infections in animals. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 66: 85-107, 1972.

PEARCE, E. J. et al. Downregulation of Th1 cytokine production accompanies induction of Th2 responses by a parasitic helminth, *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Experimental Medicine*, 173: 159-166, 1991.

PEREIRA, L. M. et al. Hepatitis C virus infection in schistosomiasis mansoni in Brazil. *Journal of Medical Virology*, 45: 423-428, 1995.

ROCHA, H.; KIRK, J. W. & HEARY, C. D. Prolonged *Salmonella* bacteraemia in patients with *Schistosoma mansoni* infection. *Archives of Internal Medicine*, 128: 254-257, 1971.

ROCHA, H.; MOTTA, J. G. & REBOUÇAS, G. Características da infecção por *Escherichia coli* em camundongos com esquistosomose mansoni. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 10: 299-304, 1968.

ROYER, B. et al. Inhibition of IgE-induced activation of human mast cells by IL-10. *Clinical and Experimental Allergy*, 31: 694-704, 2001.

SALIH, S. Y. et al. Salmonellosis complicating schistosomiasis in Sudan. *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 80: 14-18, 1977.

SERUFO, J. C. et al. Chronic carriers of hepatitis B surface antigen in an endemic area for schistosomiasis mansoni in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93: 249-253, 1997.

SOBUE, S. et al. Th1/Th2 cytokine profiles and their relationship to clinical features in patient with chronic hepatitis C virus infection. *Journal of Gastroenterology*, 36: 544-551, 2001.

TEIXEIRA, R. et al. Pyogenic liver abscesses and acute schistosomiasis mansoni: report on 3 cases and experimental study. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 90: 280-283, 1996.

TEIXEIRA, R. S.; BINA, J. C. & BARRETO, S. H. Bacteria infection of long duration due to genus *Escherichia* in a patient with *S. mansoni*. *Revista Médica da Bahia*, 22: 70-74, 1976.

VELUPILLAI, P. et al. Lewis(x)-containing oligosacharide attenuates schistosome egg antigen-induced immune depression in human schistosomiasis. *Human Immunology*, 61: 225-232, 2000.

WEISS, S. T. Parasites and asthma/allergy: what is the relationship? *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 105: 205-210, 2000.

27 Neuroesquistossomose

Teresa Cristina de Abreu Ferrari
Sandra Drummond
Mitermayer Galvão dos Reis

Imagem, por ressonância magnética, da medula espinhal de paciente com mielorradiculopatia esquistossomótica. Observam-se áreas de hipercaptação do contraste (setas), particularmente no nível da medula distal – cone e epicone (seta maior).

O envolvimento do sistema nervoso central (SNC) na esquistossomose pode ou não determinar manifestações clínicas. Quando sintomática, a neuroesquistossomose (NE) é uma das formas mais graves de apresentação da infecção esquistossomótica. Considerando-se as formas sintomáticas, o envolvimento cerebral é quase sempre devido à *Schistosoma japonicum*; por outro lado, a doença medular tem como agentes etiológicos *Schistosoma mansoni* ou *Schistosoma heamatobium*. As evidências hoje disponíveis sugerem que a NE depende, basicamente, da presença do ovo do parasito no tecido nervoso e da resposta imune do hospedeiro. Os pacientes com NE cerebral, geralmente, apresentam manifestações clínicas decorrentes da hipertensão intracraniana associadas a sinais neurológicos focais; já aqueles com mielorradiculopatia esquistossomótica (MRE) apresentam sinais e sintomas de uma mielopatia de localização baixa, rapidamente progressiva e geralmente associada a manifestações decorrentes do envolvimento de raízes da cauda eqüina. O diagnóstico da NE cerebral é definido por meio de biópsia do tecido nervoso; por outro lado, a MRE, geralmente, é diagnosticada segundo critério clínico. Drogas antiesquistossomóticas, corticosteróides e cirurgia são os recursos disponíveis para o tratamento da NE sintomática. O prognóstico é variável, sendo melhor na doença cerebral.

ENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL NA ESQUISTOSSOMOSE

As complicações neurológicas da esquistossomose foram primeiramente descritas por Yamagiwa, em 1889. Em 1930, Müller e Stender relataram o primeiro caso de mielite transversa causada por *S. mansoni*. O primeiro relato brasileiro de NE data de 1945, tendo sido descrito por Gama e Marques de Sá. Apesar das complicações neurológicas dessa parasitose serem consideradas condições pouco freqüentes, nas últimas duas décadas o número de relatos vem aumentando consideravelmente, principalmente no Brasil.

ETIOLOGIA E EPIDEMIOLOGIA

O termo neuroesquistossomose (NE) se refere ao envolvimento sintomático ou assintomático do sistema nervoso central (SNC) na esquistossomose. Quando associado a manifestações clínicas, é uma das formas mais graves de apresentação da infecção esquistossomótica. A NE pode ser causada por *S. japonicum*, *S. mansoni* ou *S. haematobium*. Considerando-se a forma sintomática, as últimas duas espécies estão quase sempre associadas à síndrome mielorradicular e a primeira espécie, à doença cerebral.

NE cerebral sintomática tem sido registrada em 2%-4% dos indivíduos infectados por *S. japonicum* (Watt et al., 1986). Por outro lado, esta forma de apresentação da doença é muito rara em associação às outras duas espécies de *Schistosoma*. A mielorradiculopatia esquistossomótica (MRE) é menos freqüente do que a forma cerebral, tendo sido relatados menos de quinhentos casos desde a descrição inicial da doença, em 1930. Apesar de a MRE ser considerada uma entidade rara, sua prevalência não é conhecida e alguns autores acreditam que esteja sendo subdiagnosticada (Joubert et al., 1990; Haribhai et al., 1991; Ferrari, 1997). Essa possibilidade é reforçada pelo número crescente de casos publicados, à medida que o conhecimento sobre a doença vem se difundindo, e pelo número relativamente grande de pacientes avaliados por alguns investigadores durante um curto espaço de tempo (Asano, 1992; Ferrari, 1997; Peregrino et al., 2002; Ferrari, Moreira & Cunha, 2004). *S. mansoni* é a espécie responsável pela grande maioria dos casos de MRE registrados na literatura (Ferrari, 1999; Silva et al., 2003).

Como demonstrado em estudos de necropsia (Scrimgeour & Gajdusek, 1985; Gonçalves, Fonseca & Pittella, 1995), o encontro de ovos de *Schistosoma* nas estruturas mais vascularizadas do encéfalo em indivíduos assintomáticos é mais freqüente do que os relatos das formas sintomáticas da NE.

PATOGENIA

Vários aspectos da patogenia de NE são desconhecidos. Entretanto, as evidências disponíveis sugerem que a doença resulta basicamente da presença do ovo do parasito no tecido nervoso e da resposta imune do hospedeiro, que leva à formação do granuloma periovular e à deposição de imunocomplexos na parede de vasos, com conseqüente vasculite. Os ovos podem alcançar o encéfalo ou a medula espinhal em qualquer momento da infecção; contudo, na grande maioria dos casos sintomáticos, o envolvimento do SNC ocorre durante a evolução da infecção para a sua fase crônica, ou em concomitância com as formas crônicas menos graves (por exemplo, forma intestinal ou hepatointestinal – para *S. mansoni* e *S. japonicum* – e formas urinárias sem obstrução – para *S. haematobium*). Por outro lado, a NE assintomática é muito mais comum em associação com as formas crônicas mais graves da infecção por *S. mansoni* e *S. haematobium* (por exemplo, forma hepatoesplênica e cardiopulmonar para a primeira espécie e uropatia obstrutiva para a segunda) (Ferrari, 1999; Pittella, 1991, 1997).

Acredita-se que, na forma sintomática da NE, os ovos alcançam o SNC por fluxo venoso retrógrado através do plexo venoso epidural de Batson, que conecta veias da cavidade abdominal, incluindo aquelas do sistema porta, com veias medulares e cerebrais. Esta rota permite tanto a migração anômala de vermes adultos para sítios próximos ao SNC seguindo-se oviposição *in situ*, quanto a embolização maciça de ovos a partir do sistema porta e das veias pélvicas. Os ovos pequenos, arredondados e desprovidos de espícula de *S. japonicum* viajam por todo este trajeto e alcançam o encéfalo; por outro lado, os ovos de *S. mansoni* e *S. haematobium*, por serem maiores e possuírem espícula em sua casca, ficam retidos na medula espinhal inferior. Uma vez depositado no tecido nervoso, o embrião maduro secreta e excreta substâncias antigênicas e imunogênicas que desencadeiam a reação periovular granulomatosa. Um grande número de ovos e granulomas agrupados em áreas circunscritas do SNC causam dano tanto pelo efeito de massa, quanto pela lesão direta do tecido nervoso adjacente pela própria reação inflamatória (Ferrari, 1999; Scrimgeour & Gajdusek, 1985; Pittella, 1991, 1997). Além desse mecanismo, lesões isquêmicas secundárias à vasculite parecem participar da gênese da NE sintomática (Ferrari, 1997, 1999; Pittella, 1997, 1985).

Segundo Pittella (1991, 1997), na forma assintomática da NE os ovos podem alcançar o SNC tanto pela rota descrita anteriormente (favorecida pela hipertensão portal, uma vez que esta facilita a abertura das anastomoses), como através do sistema arterial. Nessa última situação, os ovos alcançariam o sistema arterial através de *shunts* arteriovenosos pulmonares previamente existentes ou através de anastomoses porto-pulmonares, via veia ázigos, que se desenvolvem em conseqüência da hipertensão portal. A falta de sintomas é atribuída à esparsa distribuição dos ovos e à escassa reação inflamatória periovular observada nessas formas crônicas graves da infecção esquistossomótica.

PATOLOGIA

O substrato anatomopatológico básico da NE também é o granuloma periovular. A reação inflamatória associada ao ovo varia desde discreta (ou ausente) a uma reação granulomatosa que pode alcançar até cem vezes o tamanho de um ovo (Scrimgeour & Gajdusek, 1985; Pittella, 1991). No tecido nervoso adjacente ao granuloma podem-se observar congestão, edema, focos de hemorragia, proliferação vascular, tumefação endotelial, gliose e, às vezes, áreas de desmielinização. A fase de cicatrização por fibrose geralmente associa-se a astrocitose discreta (Scrimgeour & Gajdusek, 1985).

Além das lesões descritas, podem ser observadas, no tecido nervoso, alterações vasculares. Estas podem ser classificadas em dois tipos: o primeiro corresponde à arterite de vasos de pequeno calibre com necrose fibrinóide; e, o segundo, a lesões atribuídas à seqüela tanto de arterite, como de trauma da parede vascular secundário à passagem do ovo. As lesões incluídas no segundo tipo compreendem as seguintes alterações: adelgaçamento da parede arterial, interrupção da membrana elástica interna, dilatação aneurismática do lume vascular, espessamento da íntima e destruição da parede do vaso (Pittella, 1985).

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Os pacientes com NE geralmente apresentam apenas as manifestações clínicas decorrentes do envolvimento do SNC. A NE sintomática é muito rara tanto durante a fase aguda da infecção esquistossomótica quanto em associação com as formas crônicas graves da doença (Pittella, 1997; Ferrari, Moreira & Cunha, 2001). Todas as formas sintomáticas da NE são mais freqüentes entre jovens do sexo masculino.

É importante comentar sobre uma forma diferente de NE sintomática, não relacionada à presença do ovo no SNC. Ela se desenvolve em poucos pacientes, principalmente por ocasião da primeira exposição à esquistossomose, e é mais freqüente na infecção por *S. japonicum*. A doença geralmente se apresenta como encefalite ou encefalomielite agudas, simultânea ou imediatamente após as manifestações sistêmicas da fase aguda da infecção esquistossomótica, que incluem febre, cefaléia, mal-estar, anorexia, tosse, *rash* cutâneo, diarréia e dores abdominais (Case Records of the Massachusetts General Hospital, 1996). Tais manifestações clínicas (tanto as sistêmicas, quanto as neurológicas) são temporárias, regredindo espontaneamente ou em resposta ao tratamento (corticóide associado a agente antiesquistossomótico), em dias ou poucas semanas, sendo a recuperação completa (Blankfein & Chirico, 1965). Esse quadro tem sido atribuído à resposta imune humoral a antígenos de ovos e vermes adultos com formação e depósitos de imunocomplexos no SNC (Pittella, 1991).

A NE cerebral geralmente se apresenta como lesão expansiva intracraniana, de evolução lenta. As manifestações clínicas são variáveis e dependem principalmente do local da lesão e da hipertensão intracraniana causada pelo efeito de massa dos granulomas. Cefaléia, papiledema, anormalidades visuais, distúrbios da fala, alterações sensitivas, hemiparesia, nistagmo e ataxia são manifestações comuns. A duração das manifestações clínicas varia de algumas semanas a mais de um ano (Pittella et al., 1996).

Apesar de não-específico, o quadro clínico da MRE é sugestivo quando observado em indivíduos com antecedentes epidemiológicos para a infecção esquistossomática. A doença se inicia freqüentemente com quadro de dor lombar e/ou dor nos membros inferiores, geralmente de caráter radicular, que é seguida por fraqueza muscular e alterações sensitivas nos membros inferiores, quase sempre associadas a disfunção autonômica, particularmente disfunção vesical. Estas manifestações neurológicas geralmente vão se adicionando e se agravando em horas ou poucos dias. A localização na medula espinhal inferior e/ou cauda eqüina, a progressão rápida do quadro neurológico e a associação de manifestações decorrentes do envolvimento tanto da medula espinhal como de raízes nervosas (particularmente daquelas que formam a cauda eqüina) são os elementos clínicos mais característicos de MRE e, portanto, de maior valor diagnóstico (Ferrari, 1999). Apesar de as manifestações neurológicas serem bem constantes, sua intensidade varia bastante entre os pacientes. Outro aspecto relevante é que a doença tende a progredir de forma ascendente, com acometimento cada vez mais extenso da medula espinhal (Ferrari, 1997, 1999; Ferrari, Moreira & Cunha, 2004). É importante ressaltar que o quadro clínico da MRE pode, ocasionalmente, não ser sugestivo da entidade. Isso ocorre principalmente quando são envolvidos segmentos medulares mais altos ou quando a progressão do quadro neurológico é mais lenta.

Com base nas manifestações clínicas, achados evidenciados pela mielografia, lesões histológicas e evolução clínica da MRE foram descritas quatro formas anatomoclínicas, a saber:

- mielítica;
- granulomatosa;
- radicular;
- vascular.

A variedade mielítica ocorre quando o grau de reação tissular à infecção é mínimo, resultando em necrose, vacuolização e atrofia do tecido nervoso, com pouca ou nenhuma reação granulomatosa em torno do ovo. Clinicamente, se traduz, na maioria das vezes, por quadro de mielite transversa rapidamente

progressiva, sem se acompanhar de alterações na mielografia, associando-se também a prognóstico menos favorável. O tipo granulomatoso resulta de intensa reação gliótica e fibrótica ao redor do ovo, levando à formação de massa granulomatosa intratecal que pode ser extra ou intra-axial. Na imensa maioria das vezes se localiza no interior do cone medular, manifestando-se freqüentemente como lesão expansiva e, portanto, associada a quadro clínico de instalação menos rápida. A mielografia freqüentemente evidencia defeito de enchimento associado ou não a bloqueio parcial ou completo do canal medular. A forma radicular decorre da presença de múltiplos granulomas depositados na superfície das raízes espinhais, particularmente nas raízes, da cauda eqüina. Manifesta-se como síndrome multirradicular, associada a alterações sensitivo-motoras habitualmente de distribuição assimétrica, podendo ou não determinar espessamento de raízes visível na mielografia. O prognóstico nessa variedade, assim como no tipo granulomatoso ao qual freqüentemente se associa, é tido como mais favorável. Vasculite de ramos da artéria espinhal anterior, com isquemia secundária das colunas anteriores da medula, tem sido sugerido como o substrato mais provável da chamada forma vascular, que também apresenta prognóstico favorável. Análise detalhada da literatura, entretanto, evidenciou grande sobreposição das diversas formas anatomoclínicas em relação às quatro características antes mencionadas, sugerindo que a doença representa um espectro, limitado em uma de suas extremidades pelo depósito assintomático de ovo na medula (demonstrado em necropsia) e, na outra, por formas devastadoras, com necrose extensa da medula, ocupando, a imensa maioria dos casos, posição intermediária (Ferrari, 1999).

Classificação mais simples, baseada apenas nos achados clínicos, descreve três formas clínicas da MRE: a forma medular refere-se aos casos cujo quadro clínico sugere comprometimento exclusivo ou predominante (predominância absoluta) da medula espinhal; forma mielorradicular, que diz respeito aos casos que apresentam evidências clínicas compatíveis com lesão medular e de raízes da cauda eqüina; e síndrome de cone e cauda eqüina, que engloba os casos com manifestações exclusivas ou predominantes (predominância absoluta) de envolvimento de raízes da cauda eqüina, podendo este estar ou não associado a comprometimento da medula caudal (cone e epicone) (Ferrari, Moreira & Cunha, 2004). Considerando-se esta classificação, a literatura mostra que a maioria dos casos apresenta a forma mielorradicular; e, ainda, que quanto mais extenso for o comprometimento medular, pior é o prognóstico (Joubert et al., 1990; Ferrari, 1999; Ferrari, Moreira & Cunha, 2004). Aspecto curioso também descrito foi a mudança de uma para outra forma clínica, em geral no sentido de acometimento medular progressivamente mais extenso, o que reforça a necessidade de tratamento precoce (Ferrari, Moreira & Cunha, 2004).

DIAGNÓSTICO

O quadro clínico da NE cerebral é indistinguível daquele resultante de qualquer outra lesão expansiva intracraniana de evolução lenta, não existindo alterações clínicas ou aos métodos de imagem que sejam específicas da entidade. Assim, o exame histopatológico do tecido nervoso é o único meio de se estabelecer o diagnóstico definitivo. Por outro lado, o diagnóstico da MRE é fundamentalmente clínico, sendo definido com base no seguinte critério: evidência de lesão medular (medula torácica inferior, lombar e/ou sacral) e/ou lesão da cauda eqüina; confirmação de infecção esquistossomótica por método direto (exame parasitológico de fezes e/ou biópsia retal, no caso de *S. mansoni*); e exclusão de outras causas de mielopatia (Ferrari et al., 1993). Tal critério foi modificado daquele proposto pelo Center for Control Disease and Prevention (CDC, 1984), diferindo-se deste, basicamente, no que se refere à necessidade de

comprovação da infecção esquistossomótica por método direto. O critério do CDC considera suficiente para o diagnóstico da parasitose a evidência sorológica.

O exame bioquímico e citomorfológico do líquor geralmente demonstram padrão inflamatório inespecífico, caracterizado por aumento leve/moderado da concentração total de proteínas e pleocitose também leve/moderada, principalmente à custa de linfócitos. Eosinofilorraquia pode ou não ser observada. O encontro de eosinófilos no líquor pode contribuir para o diagnóstico de NS (especialmente MRE), uma vez que a sua principal causa são as helmintíases do SNC; entretanto, tal achado também não é específico, já que esse tipo de célula pode ser vista em várias outras condições (Case Records of the Massachusetts General Hospital, 1996).

Na NE cerebral sintomática, a tomografia computadorizada do encéfalo (TC) geralmente demonstra área hiperdensa, rodeada por halo hipodenso devido ao edema, associada a efeito de massa. Lesões focais múltiplas também podem ser observadas. A imagem por ressonância magnética (RM) demonstra uma ou mais áreas de aumento ou diminuição da intensidade do sinal, com intensificação pelo contraste. Mielografia, mielotomografia e imagem por RM da medula espinhal também apresentam achados não específicos. As alterações mais comuns compreendem o aumento do diâmetro da medula espinhal, mais freqüentemente do cone medular, associado ou não ao espessamento das raízes que formam a cauda eqüina. Às vezes a RM demonstra áreas de alteração da intensidade do sinal, com intensificação pelo contraste, sem qualquer mudança no diâmetro da medula espinhal (Figuras 1, 2, 3).

A pesquisa de anticorpos contra antígenos de *Schistosoma* no líquor tem sido considerada útil no diagnóstico da NE sintomática. Tais métodos sorológicos têm sido mais estudados na MRE (Pammenter et al., 1991; Ferrari et al., 1995, 1999; Magalhães-Santos et al., 2003), contudo, seu papel ainda não foi completamente definido.

TRATAMENTO E PROGNÓSTICO

Drogas antiesquistossomóticas, corticosteróides e cirurgia são as modalidades terapêuticas disponíveis para o tratamento da NE. As drogas antiesquistossomóticas, ao causarem a morte do verme adulto, interrompem a oviposição, com conseqüente redução da resposta inflamatória. Os corticosteróides agem como antiinflamatórios, diminuindo a reação inflamatória, em especial o edema, reduzindo, assim, a compressão e a destruição do tecido nervoso. Adicionalmente, existem evidências de que tais drogas reduzem a oviposição (Fowler, Lee & Keystone, 1999). A abordagem cirúrgica deve ser individualizada.

No momento, ainda não há consenso em relação ao tratamento de escolha para todas as apresentações da NE cerebral. De acordo com revisão feita por Fowler, Lee & Keystone (1999), em um paciente com quadro neurológico e lesões cerebrais provavelmente causadas pela infecção esquistossomótica, a administração imediata de corticosteróide e praziquantel (PZQ) tem demonstrado eficácia. Tais autores não estimulam excisões cirúrgicas a não ser que a incerteza diagnóstica seja grande. Eles acreditam, ainda, que pacientes minimamente sintomáticos ou assintomáticos possam ser tratados com PZQ isoladamente.

O tratamento indicado, pelos autores, para a MRE consiste em administração de PZQ (60 mg/kg/dia, por três dias) em duas doses diárias, com intervalo de quatro horas entre uma e outra, e prednisona (1,5-2,0 mg/kg/dia) em três doses diárias ou metilprednisolona (500 mg a cada 12 horas, por cinco dias), seguindo-se o uso da prednisona, como descrito anteriormente. Esta dose alta de prednisona é mantida

por três a quatro semanas, seguindo-se redução progressiva por várias semanas até a sua descontinuação completa em aproximadamente três a quatro meses, na dependência da resposta individual (Joubert et al., 1990; Pittella, 1991; Ferrari, Moreira & Cunha, 2004). A abordagem cirúrgica, devido ao risco de lesão adicional do tecido nervoso acometido, deve ser reservada para casos específicos, tais como aqueles com evidência de compressão medular, aqueles nos quais se observa piora do quadro neurológico, apesar do tratamento clínico e quando há considerável incerteza diagnóstica (Scrimgeour & Gajdusek, 1985; Ferrari, 1999). Uma vez indicada, a cirurgia deve se limitar a procedimentos descompressivos, liberação de raízes nervosas e biópsia (Ferrari, 1999).

Figura 1 – Foto MRE1: mielografia evidenciando imagens de defeito de enchimento e bloqueio do canal medular no nível da medula caudal

Figura 2 – Foto MRE2: mielografia evidenciando expansão do cone medular

Figura 3 – Imagem, por ressonância magnética, da medula espinhal de paciente com mielorradiculopatia esquistossomótica. Observam-se áreas de hipercaptação do contraste no nível da medula distal e superfície das raízes que formam a cauda eqüina (seta)

A resposta ao tratamento da NE é variável, podendo ocorrer recuperação completa, parcial ou nenhuma. Dados da literatura sugerem que o resultado é mais favorável na doença cerebral do que na MRE. A NE cerebral é associada a curso mais indolente e melhor resposta à terapia; por outro lado, *deficits* residuais são mais freqüentes e mais graves na doença da medula espinhal, que apresenta evolução mais aguda. Estudos mostram que aproximadamente 50%-60% dos pacientes com MRE tratados recuperam-se completamente ou permanecem com pequenos *deficits* que não acarretam qualquer limitação ao cotidiano; 21%-25% permanecem com seqüelas que interferem na qualidade de vida; e 14%-18% não apresentam qualquer recuperação (Ferrari, Moreira & Cunha, 2004; Ferrari, 1999). Como o prognóstico da MRE depende em parte de fatores relacionados à própria doença e, em parte, da precocidade do tratamento (Ferrari, 1999), tem sido recomendado o uso empírico de PZQ em combinação com um corticosteróide nos casos suspeitos, enquanto se aguarda o esclarecimento do diagnóstico (Joubert et al., 1990; Haribhai et al., 1991; Case records of the Massachusetts General Hospital, 1996). Isso é especialmente relevante quando se consideram os pacientes procedentes de áreas rurais de países endêmicos, onde os recursos mais sofisticados de investigação não se encontram facilmente disponíveis.

PERSPECTIVAS

Apesar do aumento do conhecimento relativo à NE ocorrido nas últimas décadas, muitos dos seus aspectos ainda precisam ser elucidados. Investigações no sentido de esclarecer esses aspectos são de grande importância, uma vez que esse conhecimento poderá permitir tanto o diagnóstico mais fácil e preciso da entidade, como também o desenvolvimento de abordagens terapêuticas mais eficazes. Assim, em um primeiro momento, tornam-se necessários estudos que tenham como objetivos primordiais a investigação dos aspectos patogenéticos da doença e o desenvolvimento de métodos diagnósticos práticos e de custo reduzido.

VIGILÂNCIA DA MORBIDADE DA ESQUISTOSSOMOSE TENDO COMO MODELO AS AÇÕES DESENVOLVIDAS PELA SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DE MINAS GERAIS

O estado de Minas Gerais comporta uma das mais importantes regiões endêmicas de esquistossomose mansoni do país (Freitas, 1972; Lambertucci et al., 1987). A área endêmica é composta por 523 municípios, sendo 518 deles contíguos e cinco dispersos. Destes, 440 têm as atividades do Programa de Controle da Esquistossomose (PCE, Ministério da Saúde, 1998) implantadas: diagnóstico e tratamento, ações educativas para a saúde e atividades de saneamento básico em algumas localidades.

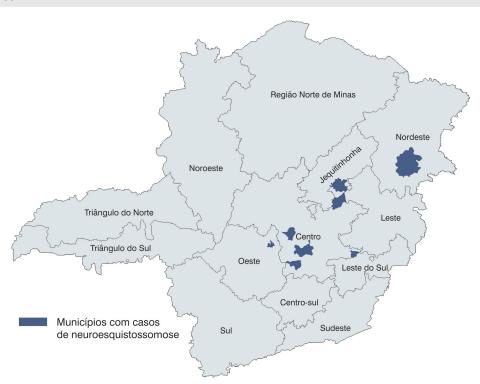
A esquistossomose é doença de notificação compulsória nas áreas não-endêmicas, mas os casos de formas graves não eram notificados ao Sistema Nacional de Agravos de Notificação (Sinan) da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde. Esse fato passou a dificultar as avaliações de morbidade, pois se sabia que as formas graves da esquistossomose ocorriam, mas até 2001 não existiam registros oficiais. Somente em 2001, a secretaria de estado de saúde de Minas Gerais, por intermédio da sua superintendência de Epidemiologia, passou a solicitar essas notificações e, em 2002, foi realizada em Belo Horizonte a Reunião para a Implantação da Vigilância da Morbidade da Esquistossomose em Minas Gerais. Desta participaram técnicos da Organização Pan-Americana da Saúde (Opas), da Fundação Nacional de

Saúde (Funasa), do Centro de Pesquisa René Rachou (CpRR/Fiocruz), da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais e da Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais – nível central (Superintendência de Epidemiologia) e nível regional (Gerências Regionais de Saúde – GRS). A partir de então, no período de setembro de 2002 a dezembro de 2005, foram identificados 128 casos de formas graves de esquistossomose, sendo 74 casos (57,8%) da forma hepatoesplênica provenientes de 26 municípios (Figura 4) e 54 casos (42,2%) de NE provenientes de 25 municípios (Figura 5) atendidos no ambulatório do Hospital das Clínicas da UFMG. Os pacientes com a forma hepatoesplênica são provenientes de áreas de alta prevalência,-porém os portadores de NE podem ser oriundos tanto de áreas de alta como de baixa prevalência.

Como mencionado antes, pode-se observar nas Figuras 4 e 5 que os casos de NE ocorreram tanto em áreas de baixa endemicidade quanto em áreas de alta endemicidade. Esta constatação representa alerta importante para que os serviços de saúde fiquem atentos e para que se possa tratar precocemente o paciente com NE, evitando-se assim seqüelas mais graves que ocorrem por conta de tratamentos tardios ou pela falta de tratamento.

Figura 4 – Municípios das áreas endêmicas e as de foco para esquistossomose mansoni no estado de Minas Gerais

Figura 4 – Municípios das áreas endêmicas e as de foco para esquistossomose mansoni no estado de Minas Gerais (continuação)

Figura 5 – Municípios com casos de neuroesquistossomose diagnosticados entre setembro de 2002 e julho de 2004

REFERÊNCIAS

ASANO, N. M. J. *Neuroesquistossomose; Aspectos Clínicos, Laboratoriais e de Imuno-diagnóstico*, 1992. Dissertação de Mestrado, Recife: Universidade Federal de Pernambuco.

BLANKFEIN, R. J. & CHIRICO, A. M. Cerebral schistosomiasis. *Neurology*, 15: 957-967, 1965.

CASE RECORDS OF THE MASSACHUSETTS GENERAL HOSPITAL. Weekly clinicopathological exercises. Case 4-1996. *The New England Journal of Medicine*, 334: 382-389, 1996.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Acute schistosomiasis with transverse myelitis in American students returning from Kenya. *MMWR Morbity and Mortality Weekly Report*, 33: 445-447, 1984.

FERRARI, T. C. A. *Abordagem Diagnóstica da Mielorradiculopatia Causada pelo* Schistosoma mansoni*; Imunodiagnóstico em Liquor pela Técnica de ELISA*, 1997. Tese de Doutorado, Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais.

FERRARI, T. C. A. Spinal cord schistosomiasis: a report of 2 cases and review enphasizing clinical aspects. *Medicine*, 78: 176-190, 1999.

FERRARI, T. C. A.; MOREIRA, P. R. R. & CUNHA, A. S. Spinal-cord involvement in the hepato-splenic form of *Schistosoma mansoni* infection. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 95: 633-635, 2001.

FERRARI, T. C. A.; MOREIRA, P. R. R. & CUNHA, A. S. Spinal cord schistosomiasis: a prospective study of 63 cases emphasizing clinical and therapeutic aspects. *Journal of Clinical Neuroscience*, 11: 246-253, 2004.

FERRARI, T. C. A. et al. Clinical and immunological study of schistosomal myeloradiculopathy. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 87: 295-297, 1993.

FERRARI, T. C. A. et al. The value of an enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of schistosomal mansoni myeloradiculopathy. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 89: 496-500, 1995.

FERRARI, T. C. A. et al. Estimation of the local synthesis of immunoglobulin G (IgG) in the central nervous system of patients with spinal cord schistosomiasis by the IgG index. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 93: 558-559, 1999.

FOWLER, R.; LEE, C. & KEYSTONE, J. S. The role of corticosteroids in the treatment of cerebral schistosomiasis caused by *Schistosoma mansoni*: case report and discussion. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 61: 47-50, 1999.

FREITAS, C. A. Situação atual da esquistossomose no Brasil. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 1/4: 3-63, 1972.

GAMA, C. & MARQUES DE SÁ, J. Esquistossomosemedular. Granulomas produzidos por ovos de *S. mansoni* comprimindo a medula, epicone, cone e cauda eqüina. *Arquivos de Neuro-psiquiatria*, 3: 334-346, 1945.

GONÇALVES, E. C.; FONSECA, A. P. C. & PITTELLA, J. E. H. Frequency of schistosomiasis mansoni, of its clinicopathological forms and of the ectopic locations of the parasite in autopsies in Belo Horizonte, Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 98: 289-295, 1995.

HARIBHAI, H. C. et al. Spinal cord schistosomiasis: a clinical, laboratory and radiologic study, with a note on therapeutic aspects. *Brain*, 114: 709-726, 1991.

JOUBERT, J. et al. Schistosomiasis of the spinal cord – underdiagnosed in South Africa? *South African Medical Journal*, 77: 297-299, 1990.

LAMBERTUCCI, J. R. et al. Schistosomiasis mansoni in Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 20: 47-52, 1987.

MAGALHÃES-SANTOS, I. F. et al. Antibodies to *Schistosoma mansoni* in human cerebrospinal fluid. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 68: 294-298, 2003.

MÜLLER, H. R. & STENDER, A. Bilharziose des Ruckenmarkes unter dem Bild einer myelitis dorsolumbalis trnsversa completa. *Arch Schiff Tropen Hyg Pathol Exot Krank*, 34: 527, 1930.

PAMMENTER, M. D. et al. The value of immunological approaches to the diagnosis of schistosomal myelopathy. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 44: 329-335, 1991.

PASSOS, A. D. C. *Controle da Esquistossomose: diretrizes técnicas*. Brasília: Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde, 1998.

PEREGRINO, A. J. et al. Esquistossomose medular: análise de 80 casos. *Arquivos de Neuro-psiquiatria*, 60: 603-608, 2002.

PITTELLA, J. E. H. Vascular changes in cerebral schistosomiasis mansoni: a histopathological study of fifteen cases. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 34: 898-902, 1985.

PITTELLA, J. E. H. The relation between involvement of the central nervous system in schistosomiasis mansoni and the clinical forms of the parasitosis: a review. *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 94: 15-21, 1991.

PITTELLA, J. E. H. Neuroschistosomiasis. *Brain Pathology*, 7: 649-662, 1997.

PITTELLA, J. E. H. et al. Tumoral form of cerebral schistosomiasis mansoni: a report of four cases and a review of the literature. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 98: 15-20, 1996.

SCRIMGEOUR, E. M. & GAJDUSEK, D. C. Involvement of the central nervous system in *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* infection: a review. *Brain*, 108: 1.023-1.038, 1985.

SILVA, J. H. et al. Mielorradiculopatia esquistossomática. *Revista Médica de Minas Gerais*, 13: 37-42, 2003.

SILVA, L. C. S. et al. Mielorradiculopatia esquistossomática *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 37: 261-272, 2004a.

SILVA, L. C. S. et al. Treatment of schistosomal myeloradiculopathy with praziquantel and corticosteroids and evaluation by magnetic resonance imaging: a longitudinal study. *Clinical Infectious Diseases*, 39: 1.618-1.624, 2004b.

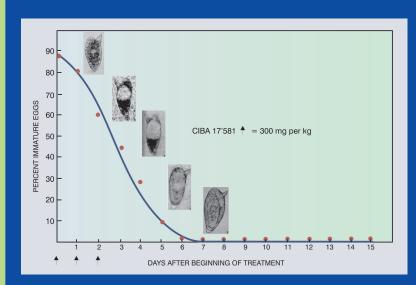
WATT, G. et al. Praziquantel in treatment of cerebral schistosomiasis. *The Lancet*, 2: 529-532, 1986.

YAMAGIWA, K. Contribution to etiology of jacksonian epilepsy: pathological changes of cerebral cortex caused by schistosoma eggs. *Tokio Igakkai Zasshi*, 3: 1.032, 1889.

PARTE IV

Tratamento

28 Terapêutica Experimental da Esquistossomose Mansoni

Naftale Katz

Curva de desaparecimento dos ovos imaturos após a ação da droga.
Fonte: modificado de Pellegrino & Katz (1968).

Nas três últimas décadas houve uma significativa melhoria na eficiência terapêutica do tratamento contra a esquistossomose mansoni, com a introdução de duas drogas (oxamniquine e praziquantel) que, administradas em dose única, por via oral, apresentam atividade terapêutica elevada e baixos efeitos colaterais, o que permitiu o tratamento de milhões de pessoas infectadas.

É possível que o advento dessas drogas, associado à ocorrência da esquistossomose somente em países em desenvolvimento ou subdesenvolvidos, portanto com baixa capacidade de compra, tenha feito com que as indústrias farmacêuticas não se interessassem em promover investimentos vultosos para descobrirem novos fármacos contra essa, ainda, importante parasitose.

Considera-se especialmente o praziquantel como uma droga com muitas das propriedades que se deseja para uma droga ideal, ou seja:

- ausência ou freqüência baixa de efeitos colaterais e tóxicos para o homem;
- alta atividade curativa nas três principais espécies que parasitam o homem (*Schistosoma mansoni, S. hematobium* e *S. japonicum*);
- eficácia em dose única;
- administração oral;
- atividade contra todos os estágios do parasito;
- estabilidade química em comprimidos ou suspensão, com vida longa 'na prateleira', sem necessidade de armazenamento especial;
- e por último, mas não por fim, baixo custo, continua existindo a necessidade de descobrimento de novos agentes contra a esquistossomose.

É claro que poderiam ainda ser acrescentadas outras qualidades, tais como ação sobre todas as cepas do parasito, nas diferentes regiões do mundo, compatibilidade farmacológica com outras drogas etc. Todavia, as sete qualidades antes referidas bastam para servir como orientação na busca de novos fármacos, pois a droga ideal para a esquistossomose ainda não existe. Não só não existe, como não tem sido procurada.

Considerada como uma doença negligenciada, pela Organização Mundial da Saúde (OMS), a esquistossomose tem recebido pouco investimento em pesquisa sobre novas drogas, nas últimas décadas. De fato, progressos significativos não têm sido alcançados também no desenvolvimento de novas técnicas para o estudo experimental de novos fármacos para a esquistossomose. Portanto, para revisões mais detalhadas sobre técnicas de manutenção do ciclo e dos testes de avaliação de drogas, continuam válidas as realizadas por Standen (1963), Pellegrino & Katz (1968) e Katz & Pellegrino (1974). Para uma visão atualizada sobre drogas em uso hoje em dia e/ou em desenvolvimento, sugere-se a revisão de Cioli, Pica-Mattoccia & Archer (1995).

NOVOS FÁRMACOS: OBJETIVOS E ABORDAGENS

Na busca de novos fármacos para a terapêutica experimental, deve-se considerar os objetivos a serem percorridos para a produção de drogas com funções diferentes, tais como: drogas profiláticas, que irão prevenir a infecção, por agirem nas formas jovens do verme; drogas supressoras, que acabem com a postura das fêmeas e, portanto, eliminem o principal agente patogênico, o ovo, além de interromper a transmissão da parasitose; e drogas curativas, que matam todos (ou quase) os vermes maduros, interrompendo a infecção.

Uma quarta abordagem poderia ser a da busca pela droga antipatologia, isto é, que produziria a reversão das lesões já ocasionadas por *S. mansoni*, especialmente a reversão da fibrose e das alterações hemodinâmicas. Hoje se sabe que, para as drogas esquistossomicidas que têm sido utilizadas na rotina clínica, essa involução acontece após um ou dois anos da cura, especialmente nos casos da forma hepatoesplênica recente, mas esse assunto não será tratado neste texto.

Para o encontro de novos agentes esquistossomicidas, três abordagens têm sido utilizadas, a saber: a empírica, a seletiva e a bioquímica. Nos últimos anos foi acrescentada uma quarta abordagem, que é a genômica.

A abordagem empírica é aquela segundo a qual se usa um grande número de fármacos sem nenhuma seleção prévia, visando encontrar uma substância líder ou guia. Essa abordagem exige uma 'procura da agulha no palheiro' (Standen 1963). Como essa metodologia é muito dispendiosa, pois são milhares as substâncias a serem triadas, tentativas foram feitas para se utilizar o teste *in vitro*, no qual a droga é adicionada ao meio de cultura, onde os vermes de *S. mansoni* sobrevivem por várias semanas. Todavia, não foi encontrada correlação entre a eficácia da atividade esquistossomicida *in vitro* (*S. mansoni*) e a eficácia da atividade *in vivo* (camundongos) de vários fármacos, a saber: diaminodifenoxialcanos, alta atividade *in vivo* (Raison & Standen, 1955) e baixa *in vitro* (Bueding & Penedo, 1957); glucosamina, que demonstrou alta atividade *in vitro*, sem atividade *in vivo* (Brener, 1960; Pellegrino et al., 1962). Vale a pena citar os compostos hycantone e UK 3883, que não apresentam atividade *in vitro* contra os vermes de *S. mansoni*, mas após administrados nos animais (e no homem) dão origem a metabólitos hidroximetilados, que são respectivamente: o hycantone e a oxamniquine, e que passam a apresentar ação contra os vermes *in vitro* (Cioli, Pica-Mattoccia & Archer, 1995).

A abordagem seletiva pede a investigação biológica de compostos quimicamente derivados daquele, guia, que anteriormente demonstrou ter alguma atividade esquistossomicida.

Os conhecimentos de hoje permitem várias modificações químicas estruturais em compostos promissores para que, por intermédio de ensaios, se chegue à melhor estrutura/atividade de uma droga.

Seguramente, todas as drogas utilizadas na clínica como esquistossomicidas passaram por essa fase (por exemplo: Miracil D, que deu origem ao hycantone, e o mirasan, à oxamniquine) (Foster & Cheetham, 1973).

A abordagem bioquímica é aquela que, se utilizando do conhecimento dos processos metabólicos do parasito, sejam químicos ou fisiológicos, visa encontrar agentes que possam interferir sobre os mesmos. Apenas para exemplificar, recentemente, com base na incapacidade dos vermes de *S. mansoni* de produzir ácidos graxos, de novo foi demonstrada a possível utilidade da lovastatina, potente inibidor da síntese endógena do colesterol, em uso clínico corrente como anticolesterolêmico (Araújo et al., 2002).

A mais recente abordagem, a genômica, surge como uma grande promessa. De fato, com o conhecimento da seqüência genética no parasito, e em comparação com os genes existentes em outros seres vivos, seria possível encontrar alvos farmacológicos para compostos que já estejam inclusive em uso clínico para outras doenças.

Neste capítulo, serão abordados aspectos fundamentais como a manutenção do ciclo de *S. mansoni* em condições de laboratório, os animais utilizados no laboratório, os métodos para triagem de drogas e para os ensaios não clínicos e os resultados experimentais de alguns compostos que vêm sendo utilizados na clínica para tratamento da esquistossomose ou que ainda se encontram em fase de desenvolvimento.

MANUTENÇÃO DO CICLO DE *S. mansoni* NO LABORATÓRIO

A manutenção do ciclo de *S. mansoni* no laboratório é fundamental para a obtenção de resultados confiáveis. É requisito para todos os laboratórios, inclusive aqueles localizados em zonas endêmicas. É necessário que sejam utilizadas metodologias e amostras padronizadas, tanto do parasito como dos hospedeiros vertebrados e invertebrados, e mantidas as boas práticas de laboratório.

A manutenção do ciclo de *S. mansoni* é geralmente feita com camundongos albinos e caramujos *Biomphalaria glabrata*.

Criação de *B. glabrata*

Para manutenção do caramujo em laboratório devem ser utilizados aquários (de vidro ou de plástico), com água corrente e boa oxigenação. A água utilizada deve ter ph entre 7,2 e 7,8 e ser isenta de cloro, cobre ou zinco, que mesmo em quantidades mínimas dificultam a sobrevivência dos caramujos. Para tanto, a água será filtrada e tratada ou deverá ser proveniente de poço, analisada e testada previamente.

As desovas são obtidas facilmente, colocando-se os caramujos adultos finais e estendendo-se na superfície da água do aquário folhas de polietileno ou placas de isopor, nas quais os caramujos depositam, preferencialmente, suas desovas. Mantida a temperatura constante em torno de 24ºC, os caramujos eclodem após seis dias. Esses caramujos recém-eclodidos devem ser mantidos por duas semanas com uma dieta constituída de uma mistura de ração balanceada para roedores acrescida de 10% de carbonato de cálcio, em forma de pasta. Em seguida, são transferidos para aquários de vidro ou caixas plásticas tendo ao fundo uma camada de areia, recoberta por uma camada de terra finamente pulverizada e autoclavada previamente e com adição de carbonato de cálcio. A oxigenação, muito importante, pode ser feita mediante borbulhamento de ar comprimido. A alimentação é constituída de alface fresca, lavada em solução de ácido acético a 10% e ração para roedores, em pequenas quantidades. Nessas condições, os caramujos vivem por vários meses, sem necessidade de limpeza dos recipientes, e mantêm contínua a atividade da oviposição (Pellegrino & Katz, 1968).

Infecção de *B. glabrata*

É importante que a linhagem de *B. glabrata* seja altamente susceptível às linhagens de *S. mansoni* mantidas no laboratório.

Os miracídios de *S. mansoni* são obtidos dos tecidos do fígado de camundongos ou *hamsters* experimentalmente infectados. A suspensão dos tecidos homogeneizados em liquidificador, em solução

salina a 0,85%, é deixada para sedimentação, em temperatura ambiente, no escuro. Após várias lavagens, por decantações sucessivas, o sedimento é suspenso em água desclorada com temperatura entre 28ºC-30ºC e exposto à luz. A maioria dos miracídios eclode após alguns minutos devido ao estímulo da tensão osmótica baixa da água, da temperatura e da luz. Obtidos os miracídios, a infecção dos caramujos pode ser individual ou em massa. Para esta última, basta transferir os miracídios para o recipiente contendo os caramujos com água desclorada; e, para a primeira, coloca-se o caramujo de mais ou menos 6 mm a 8 mm de diâmetro de concha em vidro de boca larga de 12 ml de capacidade, com pouca água, o suficiente para que o animal possa se movimentar. A infecção, como rotina, é feita com dez miracídios por caramujo, deixando-os juntos por algumas horas. Os caramujos são transferidos para uma estufa ou sala, onde devem ser mantidos a 28ºC. Após trinta dias, examinam-se os caramujos, colocando-os individualmente em pequenos vidros com água e expondo-os à luz, quando 60% a 80% dos caramujos deverão eliminar cercárias, enquanto os não infectados deverão ser eliminados. Os caramujos infectados vivem em torno de quarenta dias, podendo alguns sobreviver apenas alguns meses (Pellegrino & Katz, 1968).

Infecção de Animais de Laboratório

Para a manutenção do ciclo são comumente utilizados camundongos albinos e/ou *hamsters*.

Camundongo

O camundongo (*Mus musculus*) é considerado o animal de escolha padrão, seja pela facilidade de criação e manuseio, por ser um bom hospedeiro ou por se comportar perante a infecção esquistossomótica de maneira semelhante ao homem. Esse animal pode ser infectado facilmente pelas vias intraperitoneal, transcutânea ou subcutânea. Prefere-se, no Laboratório de Esquistossomose do Centro de Pesquisa René Rachou/Fiocruz, a via subcutânea, por facilidades técnicas e bons resultados na recuperação dos vermes.

Animais de 20 g (de preferência de um único sexo) são inoculados por injeção no dorso, abaixo da cabeça, com 100-120 cercárias, sem necessidade de anestesia. Praticamente todos os animais infectam-se, e a taxa de recuperação gira em torno de 20-30 vermes adultos, 45 dias após a infecção.

Para que não haja desproporção entre os esquistossomos machos e fêmeas recuperados, devem-se utilizar cercárias provenientes de trinta ou mais caramujos infectados.

A taxa de mortalidade gira em torno de 10%-20% até o qüinquagésimo dia. Após este tempo, há grande aumento na mortalidade, devido a alterações teciduais ocasionadas pelos ovos (Pellegrino & Katz, 1968).

Hamster

Esse roedor (*Mesocricetus auratus*) é também um bom hospedeiro, facilmente infectado por cercárias de *S. mansoni* quando inoculado pelas vias transcutânea, intraperitoneal, subcutânea e pela bolsa alimentar (Berberian & Freele, 1964).

Para Pellegrino, De Maria & Faria (1965), esta última via deve ser a preferida, visto que proporciona simplicidade, rapidez e eficiência, mas é a via subcutânea a usada preferencialmente no Laboratório de Esquistossomose do Centro de Pesquisa René Rachou/Fiocruz.

A recuperação de esquistossomos é muito elevada (30% a 50%), e a mortalidade dos animais infectados é baixa até o qüinquagésimo dia, quando expostos a 60-80 cercárias (Pellegrino, De Maria & Faria, 1965).

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TERAPÊUTICA

Duas fases distintas e sucessivas devem ser consideradas na avaliação da atividade terapêutica de novos esquistossomicidas: triagem e ensaios não clínicos. Na fase de triagem se pretende ensaiar um número grande de produtos na busca de um guia. A metodologia a ser usada deve ser sensível, simples e de custo baixo, por ser muito trabalhosa e apresentar poucos resultados. De fato, é necessária a triagem de mais de vinte mil compostos para o encontro de um que apresente atividade esquistossomicida, quando se utiliza a abordagem empírica. O mais comum nessa fase é usar o modelo '*S. mansoni*-camundongo'. Uma vez encontrado o composto ativo, procura-se saber o máximo sobre o mesmo e inicia-se a fase seguinte dos ensaios não clínicos. Nessa fase são utilizados diferentes animais, entre os quais podem ser citados: camundongo (*Mus musculus*), *hamsters* (*Mesocricetus auratus*); ratos silvestres (*Nectomys squamipes*, *Mastomys natalensis*) e macacos (*Macaca mulata*, *Cercopithecus* sp, *Cebus appela*).

Neste capítulo serão considerados apenas o camundongo, o *hamster* e o macaco *Cebus*.

Na fase dos ensaios não clínicos interessa também conhecer a menor dose eficaz, os possíveis efeitos colaterais e tóxicos, a melhor via de administração, a ação sobre as diferentes fases evolutivas do verme, enfim, a obtenção do maior número possível de informações antes de se passar para o objetivo final, que é o ensaio clínico. Estima-se que de cada dois a três mil compostos ativos encontrados na fase de triagem, apenas um vai se transformar num agente terapêutico a ser utilizado na clínica. Se, por um lado, durante a triagem, deve-se utilizar de preferência um, no máximo dois, indicador que revele atividade sobre os parasitos, na fase seguinte, maior número de indicadores deve ser avaliado para que se possa demonstrar a eficiência da atividade terapêutica, bem como o estudo do mecanismo e o modo de ação da droga.

Assim, no Laboratório de Esquistossomose do Centro de Pesquisa René Rachou/Fiocruz, utiliza-se como método de escolha na triagem de drogas o oograma. Já na fase de ensaio não clínico são acrescentadas outras informações, como: distribuição de vermes no sistema porta, presença de vermes mortos no fígado, além do oograma. Posteriormente, para o estudo do mecanismo de ação das drogas sobre *S. mansoni*, usa-se a microscopia ótica e eletrônica, bem como a histoquímica e ensaios *in vitro* que podem fornecer informações adicionais importantes.

As metodologias de avaliação de compostos com atividades profiláticas ou supressivas de postura de ovos são diferentes e serão discutidas mais adiante.

Triagem de Drogas *In Vivo*

O camundongo é o animal de escolha para triagem de drogas, tendo apenas Berberian & Freele (1964) sugerir o *hamster*. Entre os diversos métodos e critérios propostos para a triagem de drogas em camundongos pode-se citar: contagem de ovos nos tecidos (geralmente fígado e/ou intestino e nas fezes), contagem de granulomas no fígado e aumento da sobrevida dos animais tratados (Pellegrino & Katz, 1968).

Atualmente, para a triagem de drogas usam-se principalmente alterações no oograma, ao qual se podem ser acrescentados distribuição dos vermes, redução do número de vermes e presença de vermes mortos no fígado (Pellegrino & Katz, 1968).

A distribuição dos vermes no sistema porta de camundongos experimentalmente infectados por *S. mansoni*, aos 45 dias, quando a quase totalidade de vermes já atingiram a maturidade sexual e iniciaram a postura de ovos, é de 60%-70% nos vasos mesentéricos, 20%-30% na veia porta e 0%-20% nas veias intra-hepáticas. A administração das drogas ativas contra *S. mansoni* em camundongos infectados

produz um deslocamento parcial ou total dos vermes para o fígado (Pellegrino & Katz, 1968). É importante lembrar que os anestésicos (por exemplo, éter etílico ou clorofórmio) também produzem esse deslocamento, e, assim, o sacrifício dos animais a serem examinados deve ser feito por fratura cervical (Khayyal, 1965).

A redução do número de vermes é medida após a perfusão do sistema porta dos camundongos para a retirada dos vermes; faz-se a contagem dos vermes, considerando-se separadamente machos, fêmeas e acasalados. Faz-se também o esmagamento do fígado para encontro dos vermes imobilizados por tecido inflamatório. O número total de vermes é comparado então com aquele encontrado no grupo de camundongos não tratados (controle) (Pellegrino & Katz, 1968).

Por comparação com os vermes do grupo controle (não tratado), observa-se também o tamanho dos vermes e a pigmentação dos vermes fêmeas.

O estudo do oograma (método de Pellegrino et al., 1962) deve ser o preferido para avaliação de triagem de drogas e também constar sempre nos ensaios não clínicos de agentes ativos contra o *S. mansoni*.

O método do oograma tem o seguinte embasamento teórico e metodológico: nas infecções experimentais balanceadas, a partir do trigésimo dia de inoculação os vermes fêmeas iniciam a postura de ovos ainda imaturos, que levam em torno de seis dias para o amadurecimento completo, isto é, para que o embrião de primeiro estágio atinja a forma de miracídio (Pellegrino et al., 1962; Gonnert, 1955; Prata, 1957).

Para demonstração clara do fenômeno de interrupção da postura, camundongos foram tratados com uma droga ativa (derivado tioxantônico – Ciba 17,581) que provoca um deslocamento rápido dos vermes para o fígado (Pellegrino & Katz, 1968). Os camundongos foram sacrificados a cada 12 horas após o tratamento, e examinando-se ao microscópio fragmentos de seus intestinos delgados foi possível determinar o tempo necessário para maturação (e desaparecimento) dos ovos. De fato, ovos de primeiro estágio desaparecem já no segundo dia após o tratamento; ovos do segundo estádio, no quarto dia; do terceiro estádio, no quinto dia; do quarto estádio, no sétimo dia; e os ovos maduros levam sete dias para serem formados, portanto podem persistir até mais de 12 dias na parede intestinal (Figura 1).

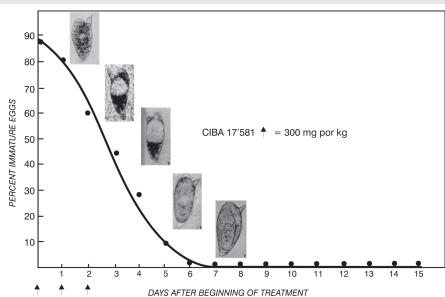



Figura 1 – Curva de desaparecimento dos ovos imaturos após a ação da droga

Fonte: modificado de Pellegrino & Katz (1968).

O oograma, portanto, é o método que, examinando fragmentos de tecidos ao microscópio, permite, por meio da análise morfológica, identificar os diferentes tipos de ovos de *S. mansoni,* que são classificados como viáveis ou mortos. Dentre os ovos viáveis, há os imaturos (primeiro estádio: o embrião ocupa menos de 1/3 do diâmetro do ovo; segundo estádio: metade do diâmetro; terceiro estádio: 2/3 do comprimento do ovo; quarto estádio: ocupa praticamente todo o ovo) e os maduros (miracídios totalmente desenvolvidos). Esses ovos podem morrer quando imaturos e darão origem aos ovos hemitransparentes, granulosos ou com embrião retraído. Se morrerem após a maturidade, os ovos maduros podem dar origem aos ovos com miracídios retraídos, granulações grosseiras e calcificados. Também podem ser encontradas somente as cascas, sem sinal do miracídio ou das células vitelinas.

Em duzentos camundongos experimentalmente infectados por *S. mansoni* – de cada animal foram contados e classificados cem ovos nos fragmentos intestinais –, foi observada a seguinte proporção: primeiro estádio: 15%; segundo estádio: 14%; terceiro estádio: 25,3%; quarto estádio: 11,6%; ovos maduros: 29,2%; e ovos mortos e cascas: 4,9% (Pellegrino & Katz, 1968).

Após o tratamento, a ausência de qualquer um dos estádios dos ovos viáveis é indicação de que houve parada de postura e que, portanto, a droga tem atividade sobre *S. mansoni*. Embora na maioria das vezes a interrupção da postura possa indicar que a droga é esquistossomicida, nem sempre isso é verdade, pois são vários os compostos que produzem apenas paradas (temporárias ou definitivas) da postura sem matar os vermes (drogas supressoras).

Para a triagem de drogas, após ensaios preliminares do teste de toxicidade, as drogas são administradas em grupos de cinco camundongos albinos (Swiss) na dose diária correspondente a 1/5 da LD50 (dose letal para metade dos animais), por cinco dias consecutivos, de segunda a sexta-feira, 45-50 dias após a infecção dos animais com 100-120 cercárias de *S. mansoni*, por via subcutânea, no dorso de cada um. São utilizados camundongos de ambos os sexos, pesando em torno de 20 g. A droga é administrada por via oral (gavagem com agulha apropriada) e/ou intramuscular, com preferência para a primeira. Droga com solubilidade acima de 10% é administrada por via intraperitoneal, e aquelas com solubilidade baixa são administradas, por via oral, em suspensão de gelatina a 5%.

Três dias após a última dose, os animais são sacrificados por esmagamento cervical. Rompe-se a pele do abdômen e abre-se a cavidade peritoneal. Retira-se, com auxílio de tesoura, 2-3 fragmentos, de 1 cm cada, da parte distal do intestino delgado. Abre-se longitudinalmente o intestino, que é então lavado em água corrente e colocado para secar sobre papel absorvente. Comprime-se o fragmento do intestino entre duas lâminas de vidro. São contados e classificados de cem a duzentos ovos, utilizando-se o microscópio ótico. Todavia, se o exame de uma dezena de campos já revelar ovos viáveis de todos os estádios, não é necessário fazer contagem, e a droga é considerada inativa.

Uma droga é considerada ativa e, portanto, merecedora de ensaios posteriores, quando um dos estádios dos ovos viáveis imaturos está ausente.

Ensaios Não Clínicos

Para os ensaios não clínicos, todas as drogas que se mostraram ativas no método do oograma são, no laboratório, ensaiadas em camundongos, *hamsters* e macacos *Cebus* experimentalmente infectados por *S. mansoni*. São observados especialmente o número total de vermes recuperados por perfusão e os retidos no fígado, a distribuição na veia porta, nas veias mesentéricas e intra-hepática, a presença de

vermes mortos no fígado e o oograma. Observam-se ainda a pigmentação das fêmeas e o tamanho e mesmo alguma alteração morfológica dos vermes. Para o encontro de drogas curativas e/ou supressoras, camundongos (albinos Swiss) em grupos de 10-12 animais, após 45-50 dias infectados com 100-120 cercárias de *S. mansoni*, por injeção subcutânea no dorso, são tratados, normalmente, por via oral, com doses múltiplas (cinco dias) ou únicas dos compostos. As doses utilizadas são baseadas nos resultados encontrados na fase de triagem anteriormente realizada. O período do sacrifício dos animais pode ser de três ou sete dias após o tratamento. Após perfusão, são observados principalmente o oograma, o número total de vermes encontrados, considerando-se machos e fêmeas acasalados, a sua distribuição no sistema porta-hepático (fígado, veia porta e mesentéricas), a porcentagem de vermes mortos no fígado, além dos aspectos morfológicos dos vermes.

Grupo de cinco a sete *hamsters* adultos (*Mesocricetus auratus*), entre sete e oito semanas após a infecção com 60-80 cercárias de *S. mansoni*, pela bolsa alimentar, é tratado com doses decrescentes do composto a ser ensaiado, por até cinco dias ou em dose única, usualmente por via oral.

Os parâmetros a serem observados são os mesmos citados anteriormente para o exame dos camundongos.

Os macacos utilizados nestes ensaios são *Cebus appela macrocephalus* (macaco-prego), que, embora de difícil manuseio, apresentam resultados muito parecidos com aqueles encontrados no homem, mas também outras espécies de *Cebus,* como *C. appela appela* e *C. libidinosus*.

Os animais, após imobilização, são infectados por via transcutânea, com 150-200 cercárias de *S. mansoni*. O tratamento inicia-se quatro meses após a infecção, após confirmação do sucesso da infecção através de curetagem retal. Doses múltiplas, por até cinco dias, ou única, por via oral, são utilizadas, baseando-se na definição da dose nos resultados previamente obtidos nos camundongos e *hamsters*.

A avaliação da atividade da droga é feita através de sucessivas curetagens retais, realizadas antes e em diferentes períodos após o tratamento, até o quarto mês. O método de curetagem é rápido, simples e fornece informações preciosas por intermédio do oograma. Em geral, quatro fragmentos são retirados, com cureta, da mucosa retal e pesados em balança analítica, comprimidos entre lâmina e lamínula e examinados ao microscópio (Katz, Pellegrino & Memoria, 1966). Os elementos esquistossomóticos são contados e classificados (ovos imaturos de primeiro a quarto estádios, maduros, mortos e cascas). A avaliação da atividade terapêutica baseia-se nas alterações encontradas no oograma, representada pelo desaparecimento gradativo dos ovos viáveis.

Pesando-se os fragmentos obtidos por curetagem retal e contando-se os ovos encontrados, pode-se calcular o número de ovos por grama de tecido retal. Essa abordagem quantitativa (Katz, Pellegrino & Memoria, 1966) é de grande valia na avaliação da atividade de droga contra esquistossomose (Katz & Pellegrino, 1974b) e semelhante à sugerida para ensaios clínicos humanos (Cançado et al., 1965).

Os macacos *Cebus* – nos quais a persistência da parada da postura, evidenciada pelo oograma, que registrou desaparecimento dos ovos viáveis imaturos e maduros, mantém-se por quatro meses ou mais – são sacrificados e perfundidos na tentativa do encontro dos vermes no fígado ou no sistema porta, após a ingestão da droga que está sendo ensaiada, e os seus órgãos são também utilizados para estudos anatomopatológicos (Pellegrino & Katz, 1968).

As vantagens do uso do macaco *Cebus* em ensaios não clínicos na esquistossomose mansoni são:

- custo relativamente baixo;
- manutenção adequada em condições de laboratório;

- porcentagem alta de cercárias que se transformam em vermes adultos (30% a 50%);
- elevado número de ovos nas fezes e na mucosa retal;
- infecção persistente por vários anos;
- boa correlação com os resultados obtidos na clínica humana, no que se refere à resposta terapêutica a drogas (Pellegrino & Katz, 1968; Katz & Pellegrino, 1974b).

Avaliação Quantitativa da Atividade Antiesquistossomótica

É muito importante que se faça uma avaliação quantitativa da atividade antiesquistossomótica, pois ela vai orientar na escolha do melhor composto de uma série, antes do início dos ensaios clínicos em voluntários. Entretanto, permite também fazer comparações de atividade entre drogas e doses diferentes, possibilitando estudos mais exatos e comparações mais precisas.

Os critérios de avaliação anteriormente mencionados devem ser, sempre que possível, analisados quantitativamente. Assim a porcentagem da redução da carga parasitária nos animais tratados, bem como o percentual do número de vermes no fígado, na veia porta e nos vasos mesentéricos são comparados com os do grupo-controle.

A dose efetiva (DE), isto é, aquela que mata 50% (DE_{50}) ou 90% (DE_{90}) dos vermes, colocada em relação à LD_{50} (dose letal para 50% dos animais tratados), indica o índice terapêutico (IT). Também para o oograma pode-se medir o DO_{50} (dose diária em mg/kg, administrada por um ou cinco dias consecutivos e que produz alteração do oograma em 50% dos animais tratados) e depois relacioná-la à LD_{50}.

Para macacos *Cebus*, foi adaptada a técnica do oograma quantitativo utilizado em ensaios clínicos, que mostrou ser um ótimo método quando se usa a curetagem retal nos animais em teste (Katz, Pellegrino & Memoria, 1966; Katz & Pellegrino, 1974b).

É necessário salientar que embora todos os métodos de avaliação realizados em animais de laboratório sejam muito importantes e mesmo indispensáveis, a definição de atividade de determinado composto no homem depende da realização dos ensaios clínicos.

Triagem de Drogas *In Vitro*

Desde a década de 1950, técnicas foram descritas para testar a atividade *in vitro* de compostos sobre vermes de *S. mansoni* (Standen, 1963).

Este assunto encontra-se resumido neste capítulo, visto que os resultados dos testes de muitas drogas *in vitro* não correspondem ao que se observa *in vivo*, como anteriormente citado. O uso da cultura do verme *in vitro* para ensaios de drogas tem sua aplicação quando se quer observar alguns fenômenos morfológicos e fisiológicos, que podem ser importantes na interpretação do mecanismo de ação de drogas.

A seguir é apresentada a técnica utilizada por Pica-Mattoccia & Cioli (2004). Dez a doze vermes adultos são distribuídos em duplicatas, em tubos de cultura de tecido (3,5 cm) contendo o meio de Eagle modificado por Dalbecco, tamponado com bicarbonato, e suplementado com 20% de soro bovino fetal, ao qual se acrescenta penicilina, estreptomicina e anfotericina B. As culturas são mantidas a 37ºC, em atmosfera de CO_2 a 5% e são observadas diariamente por oito a dez dias, com auxílio de um microscópio. Diferentes concentrações das drogas são adicionadas às culturas e os vermes ficam expostos

por uma noite. No dia seguinte, os vermes são lavados por três vezes e transferidos para frascos contendo o mesmo meio de cultura sem droga. A droga pode ser dissolvida em DMSO (dimetilsulfóxido, no máximo a 0,1%) e nos frascos, que servirão de controle, é adicionado DMSO na mesma concentração (Pica-Mattoccia & Cioli, 2004).

No fim do período de observação, os vermes são considerados mortos se permanecem imobilizados por horas ou adquirem uma aparência opaca. Como medida auxiliar de avaliação, os vermes podem ser medidos.

DROGAS CURATIVAS

Resultados dos estudos experimentais de duas drogas esquistossomicidas de uso corrente na terapêutica clínica no Brasil, oxamniquine e praziquantel, são apresentados a seguir e ilustram as fases do desenvolvimento de medicamentos esquistossomicidas, desde a identificação de compostos promissores até a aprovação para uso clínico em humanos.

Oxamniquine

Richards & Foster (1969) e Baxter & Richards (1971), trabalhando na Pfizer (Sandwich, Inglaterra), descreveram uma nova série de derivados 2-aminometil-tetra-hidroquinolínicos que apresentaram ação marcante esquistossomicida. Dos mais de cinqüenta derivados ensaiados, foi escolhido como dos mais promissores o UK3883. Esse composto, além da ação curativa em dose oral única, apresentou também atividade profilática e ação contra todos os estágios imaturos em camundongos (Foster et al., 1971a, 1971b). Em várias espécies animais, sofre hidroxilação do grupo 6-metil, dando origem ao UK 4271, denominado oxamniquine (Kaye & Woolhouse, 1972; Foster, Cheetham & King, 1973; Foster, 1973).

Figura 2 – Estrutura química da oxamniquine

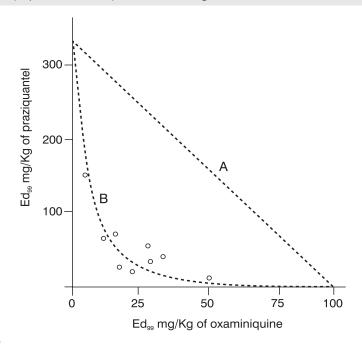
Fonte: Foster (1973).

A oxamniquine, em dose oral ou intramuscular única, apresentou elevada atividade curativa contra *S. mansoni* em roedores e primatas. Em camundongos, a ED99 foi, por via oral ou intramuscular, de respectivamente 44 mg/kg e 42 mg/kg em dose única. Por via oral, em *hamsters* a atividade curativa foi semelhante à encontrada em camundongos, mas por via intramuscular foi

muito mais ativa (ED99: 12 mg/kg). Em macacos *Cebus,* a dose curativa (im ou iv) foi de 5-7,5 mg/kg, mas não apresentou atividade acentuada em *Cercophitecus e Papio*. *In vitro* a oxamniquine apresentou apenas atividade moderada, na dose de 200 ug/ml por 65-90 horas (Foster, 1973).

A oxamniquine mostrou atividade acentuada em camundongos, *hamsters* e macacos *Cebus*. Em camundongos, dose intramuscular única de 100 mg/kg produziu alterações do oograma em todos os animais tratados e deslocamento dos vermes para o fígado. Nos *hamsters*, a dose intramuscular de 50 mg/kg também apresentou efeitos semelhantes aos encontrados nos camundongos. Quatro macacos *Cebus* foram tratados com dose única de 20-40 mg/kg, im. Curetagens da mucosa retal feitas em série, antes e após o tratamento, mostraram o desaparecimento progressivo dos ovos imaturos e maduros até o 120º dia, quando os macacos foram sacrificados. Após a perfusão do sistema porta e do fígado, vermes não foram encontrados (Pellegrino, Katz & Dias, 1973).

Em todos os hospedeiros, os vermes machos mostraram-se mais susceptíveis à droga do que as fêmeas. Este fato não foi observado *in vitro* (Foster, 1973). Na fase imatura, dose única oral de 50 mg/kg, administrada durante o período pré-patente, em camundongos, reduziu o número de vermes, exceto para aqueles na terceira semana pós-infecção. De fato, a oxamniquine produziu nestes grupos redução acentuada do número de vermes (e do número de ovos nos tecidos), quando a droga foi administrada um dia após o inóculo, diminuindo sua ação aos oito e 15 dias, chegando a mostrar-se inativo aos 22 dias, voltando a ter atividade sobre os vermes imaturos aos 25 e 36 dias (Gráfico 1) (Foster, 1973). O uso da oxamniquine em camundongos 24 horas após a infecção produz grande mortalidade dos esquistossômulos na pele e aqueles que chegam aos pulmões também morrem, pois aos 35 dias não foram encontrados vermes no sistema porta dos animais (Coelho, Mello & Gerken, 1993).

Gráfico 1 – Atividade da oxamniquine (dose única oral de 50 mg/kg) contra a infecção imatura de *Schistosoma mansoni* (cepa Puerto Rico) em camundongos

Fonte: adaptado de Foster (1973).

Não foi detectada atividade eficaz contra *S. hematobium* ou *S. japonicum*. Curiosamente, as cepas de *S. mansoni* isoladas do oeste da África comportaram-se na resposta à oxamniquine de maneira semelhante aos isolados do Brasil. Já aquelas do norte (Egito e Sudão) e do lado oriental da África apresentaram menor susceptibilidade à ação da droga, seja experimental, seja na clínica.

Os vermes recuperados dos camundongos após o terceiro dia de tratamento já mostravam parada da oviposição, sem que ainda houvesse deslocamento dos mesmos para o fígado. Na segunda semana, todos os vermes estavam no fígado, e a parada da postura era total. Alterações morfológicas foram mais precoces e mais intensas nos vermes machos, os quais já no terceiro dia apresentaram embebição do parênquima. No 15º dia, as alterações foram mais intensas, com vacuolização e desaparecimento dos núcleos das células do parênquima (lesão 'em bolha'). Nas fêmeas, a partir do sétimo dia, foi vista redução da quantidade do material vitelínico no ovário e despigmentação acentuada. Os vermes sobreviventes (machos e fêmeas) apresentaram diminuição significativa de tamanho e, até 120 dias após tratamento, uma grande quantidade dos vermes não havia recuperado a sua capacidade de realizar oviposição (Kohn et al., 1979).

O mecanismo de ação da oxamniquine parece estar relacionado com a capacidade de inibição irreversível da síntese dos ácidos nucléicos nos vermes (Cioli, Pica-Mattoccia & Archer, 1995).

Praziquantel

Na década de 1970 foram iniciados os estudos conjuntos entre os laboratórios Bayer e Merck com derivados pirazinoisoquinolínicos como antiparasitários. Depois de sintetizarem mais de quatrocentos compostos, o mais promissor revelou ser o Embay 8440 ou praziquantel (2- (ciclohexilcarbonil)- 1,2,3,6,7,11b-hexahidro-4H-pirazino [2,1-a] isoquinolina-4 one) (= cicloexilcarbonil e hexaidro*)* (Webbe & James, 1977).

Figura 3 – Estrutura química do praziquantel

N
O
O

Fonte: Andrews & Thomas (1983).

De fato, além da atividade anticestódios e antitrematódeos, o praziquantel foi a primeira droga que mostrou atividade acentuada, por via oral, ou intramuscular em dose única, contra as três principais espécies de *Schistosoma* que acometem o homem, ou seja: *S. mansoni*, *S. haematobium*, *S. japonicum* e também contra *S. intercalatum* e *S. mattheei* (Gönnert & Andrews, 1977; Webbe & James, 1977; Andrews et al., 1983).

Ensaios experimentais mostraram que o praziquantel apresentou atividade acentuada contra várias espécies de *Schistosoma* em camundongos, *hamsters* e também em diferentes espécies de macacos. A dose ED_{95} para camundongos infectados experimentalmente por *S. mansoni* foi de 685 mg/kg, com dose única oral de 403 mg/kg por via im; para *Mastomys*, de 278 mg/kg e 125 mg/kg, respectivamente para via oral e via im; e no *hamster*, de 249 mg/kg e 100 mg/kg, respectivamente. Em macacos, a ED variou conforme cada espécie (Gönnert & Andrews, 1977; Webbe & James, 1977). Deve-se destacar que cinco doses de 50 mg/kg administradas, em intervalos de três horas, por via oral, levaram à cura parasitológica completa, enquanto a dose única de 100 mg/kg não foi tão eficiente (Gönnert & Andrews, 1977).

No Brasil, Pellegrino et al. (1977) ensaiaram o praziquantel em camundongos, *hamsters* e macacos *Cebus* infectados experimentalmente com a cepa LE. Nos camundongos, doses orais de praziquantel de 100 e 50 mg/kg, durante cinco dias, produziram alterações significativas do oograma e deslocamento acentuado dos vermes para o fígado. Nos camundongos, o índice terapêutico foi de 153 mg/kg. Nos *hamsters*, os vermes mostraram-se mais sensíveis à droga. De fato, doses de 12,5 mg/kg/dia, durante cinco dias, produziram deslocamento dos vermes para o fígado e alterações do oograma, ambas as reações atingindo em torno de 60% dos animais. Já com dose de 25 mg/kg/dia, por cinco dias, todos os vermes foram deslocados para o fígado, com 88,6% deles retidos no mesmo e com 100% dos animais apresentando alterações do oograma; com doses de 12,5 e 6,5 mg/kg, também foram observadas estas alterações, embora num percentual bem menor de animais. Em dois macacos *Cebus* tratados por via oral com dose total de 30 e 60mg/kg, respectivamente, dividida em três administrações, no mesmo dia, embora houvesse indicações de atividade esquistossomicida, como grande redução da população de vermes, os poucos vermes sobreviventes estavam com sua postura de ovos preservada. Na necropsia, em ambos os macacos foram encontrados ovos viáveis de *S. mans*oni nos intestinos delgado e grosso, não verificados, porém, numa série de curetagens retais. Em um macaco *Cebus* tratado com dose única oral de 100 mg/kg e sacrificado após 138 dias, não foram encontrados nem vermes nem ovos nos intestinos delgados, grosso e no reto, na necrose (Katz, Rocha & Chaves, 1979).

Deve-se destacar que resultados semelhantes foram encontrados quando camundongos e macacos *Cebus* foram tratados com praziquantel por via intramuscular e, com um pouco menos de atividade, por inalação nasal (Pellegrino et al., 1977). Baseando-se nestas informações, foi sugerido que dose única oral de 20 mg/kg poderia reduzir o número de vermes de *S. mansoni*, no homem, em até 95%, o que corresponderia a uma taxa de cura de 60% (Webbe & James, 1977). Todavia, desde o primeiro ensaio clínico da esquistossomose mansoni com praziquantel, realizado no Brasil por Katz, Rocha e Chaves, em 1979, ficou claro que a dose deveria ser mais do que o dobro da sugerida pelos estudos experimentais.

Recentemente, Pica-Mattoccia & Cioli (2004) ensaiaram o praziquantel contra uma cepa de *S. mansoni* proveniente de Porto Rico, *in vitro* e *in vivo*. A dose efetiva (DE_{50}) nos camundongos experimentalmente infectados foi trinta vezes menor no 28º dia da infecção do que a de sete semanas após a infecção. Além disto, os vermes provenientes de infecções unissexuais, seja de machos ou de fêmeas, são menos susceptíveis à droga do que as infecções com cercárias balanceadas por sexo e, mesmo nestas últimas, as fêmeas são mais susceptíveis do que os machos.

Assim, a eficácia do praziquantel é dependente da idade da infecção, do sexo dos vermes e mesmo do estado de acasalamento ou não dos vermes. Também o estado imunitário do hospedeiro parece ser importante na resposta terapêutica ao praziquantel (Pica-Mattoccia & Cioli, 2004; Sabah et al., 1985; Doenhoff et al., 1987; Brindley & Sher, 1987).

É interessante destacar que o praziquantel utilizado comercialmente é uma mistura racêmica, constituída em partes iguais dos isômeros levógiro e dextrógiro. Experimentalmente foi demonstrado que somente o isômero levógiro apresenta atividade antiesquistossomótica, embora ambos apresentem toxicidade semelhante (Xiao & Catto, 1989; Xiao et al., 1999). Também em ensaios clínicos contra a infecção por *S. japonicum* foi comprovada essa atividade do isômero levógiro do praziquantel (Wu et al., 1991). Entretanto, o isômero dextrógiro, em altas doses, também pode apresentar atividade contra o verme, especialmente produzindo deslocamento dos mesmos para o fígado, nas infecções maduras. Todavia, mesmo elevadas doses do isômero dextrógiro (até 600 mg/kg, dose oral única em camundongos infectados por *S. mansoni*) não produziram diminuição significativa do número de vermes quando comparados com o grupo-controle, ao contrário do encontrado nos animais tratados com 300 mg/kg do isômero levógiro, em que a redução foi em torno de 98% (Xiao et al., 1999).

Estudos *in vivo* e *in vitro* mostraram que o praziquantel, minutos após ingerido, produz contração dos vermes. *In vivo* acontece o deslocamento dos vermes para o fígado e após algumas horas há vacuolização intensa em diferentes partes do tegumento (Becher et al., 1980; Mehlhorn et al., 1981). *In vitro*, as lesões decorrentes são mais dependentes do tempo de exposição do que de maiores concentrações da droga. *In vivo*, nos vermes que foram deslocados para o fígado, já a partir de quatro horas, foram vistos granulócitos aderidos às vacuolizações (lesões em 'bolha'). Após 24 horas, o tegumento encontra-se quase totalmente destruído e com intenso infiltrado granulocitário, especialmente pelos eosinófilos que invadem também a intimidade dos tecidos do verme. Com 18 dias após o tratamento, praticamente todos os vermes desaparecem do centro da reação inflamatória granulomatosa, agora já nos vasos intra-hepáticos, onde os vermes encalharam, trombosados (Mehlhorn et al., 1981). Assim, são três as principais ações do praziquantel sobre os vermes: contração muscular, lesão do tegumento e alterações metabólicas (Cioli, Pica-Mattoccia & Archer, 1995). Embora não haja dúvidas da importância do íon Ca^{2+} como mediador na ação direta ou indireta destes efeitos, não se sabe por que o fluxo de Ca^{2+} ocorre (Webbe & James, 1977; Day, Bennett & Pax, 1992). Para Cioli, Pica-Mattoccia & Archer (1995), a esteroespecificidade do praziquantel é um argumento indicativo de que a droga interage com alguma proteína do parasito que regula os fluxos de Ca^{2+}.

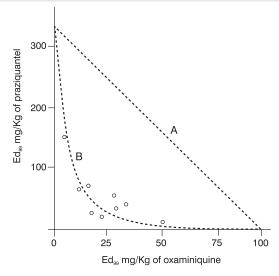
Associação de Drogas

A tentativa de associar dois agentes antiesquistossomóticos tem como objetivos: diminuir a dose de cada droga administrada individualmente (visando diminuir efeitos tóxicos e colaterais), aumentar o índice terapêutico, baixar o custo do tratamento e evitar o aparecimento de cepas resistentes.

São vários os estudos feitos utilizando-se diferentes drogas que apresentaram atividade parcial contra os esquistossomos, mas aqui serão discutidos apenas os resultados obtidos da associação entre oxamniquine e praziquantel, duas drogas que vêm sendo largamente empregadas na clínica e em programas de controle da esquistossomose, com poucos efeitos tóxicos e boa atividade terapêutica.

Para avaliação da atividade aditiva ou sinérgica de drogas, deve-se seguir o desenho experimental utilizado por Shaw & Brammer (1983). Resumindo, estes autores utilizaram, como modelos, camundongos infectados por *S. mansoni* e trataram os diferentes grupos de animais com doses crescentes de oxamniquine ou praziquantel, isoladamente ou em associação. Após 14 dias, os animais foram sacrificados e a porcentagem do número de vermes que estava encapsulada no fígado foi calculada. Foi considerado o valor de ED99 definido como a dose total de droga necessária para matar 99% dos vermes

machos (Gráfico 2). Após a análise de regressão dos dados, ficou demonstrado que a associação da oxamniquine com o praziquantel produziu ação sinérgica.

Gráfico 2 – Efeito antiesquistossomótico de oxamniquine e praziquantel, administrados sozinhos e em associação. Os pontos (o) indicam o valor de ED_{99} da oxamniquine (abscissa) e do praziquantel (coordenada) ou em várias combinações das duas. Para revelar efeito aditivo, espera-se que os pontos estejam na linha A

Fonte: Shaw & Brammer (1983).

Esse estudo experimental foi confirmado por ensaio realizado no Malawi, África, numa população com infecção mista (*S. mansoni* e *S. hematobium*, com predominância de *S. hematobium*), utilizando doses menores de oxamniquine e praziquantel que aquelas utilizadas comumente (Pugh & Teesdale, 1983). Ensaios clínicos posteriores nem sempre confirmaram esses resultados tão promissores (Utzinger et al., 2003).

Uma nova associação de drogas, praziquantel e arteméter, tem sido recentemente proposta. Essa associação permitiria matar os vermes imaturos e os maduros (Xiao et al., 2002).

DROGAS PROFILÁTICAS

Derivados da Artemisina

A artemisina, uma lactona sesquiterpênica com um grupo peróxido, é o princípio ativo obtido das folhas de *Arthemisia annua*. Essa planta tem sido utilizada há mais de dois mil anos para tratamento de febre na China e, a partir da década de 1970, a artemisina e derivados, especialmente o arteméter e o artesunato, foram utilizados amplamente como antimaláricos.

A atividade antiesquistossomótica da artemisina, do arteméter e do artesunato foi descrita no início da década de 1980, na República Popular da China, inicialmente com *S. japonicum*. Posteriormente, ficou demonstrado que a artemisina e seus compostos possuem atividade contra as três principais espécies que parasitam o homem (Utzinger et al., 2003; Xiao et al., 2002; Araújo, Kohn & Katz, 1991).

É interessante salientar que, diferentemente da oxamniquine e do praziquantel, a atividade do arteméter é maior nas formas jovens do que nos vermes adultos (Xiao et al., 2002).

No Brasil, o arteméter e o artesunato foram ensaiados em camundongos e *hamsters* experimentalmente infectados pela cepa LE de *S. mansoni* em infecções maduras (45 dias após inoculação) (Araújo, Kohn & Katz, 1991, 1999). O arteméter (solução oleosa do éter 12-metil da hidroartemisina) mostrou acentuada atividade esquistossomicida na dose única de 100 mg/kg por via intramuscular (100% de alteração do oograma e 61,5% dos vermes mortos no fígado). Já a mesma dose por via oral não produziu alteração do oograma e originou apenas 22,6% de vermes mortos no fígado. Quando os camundongos foram tratados com 100 mg/kg/dia por cinco dias, im, o percentual de vermes mortos chegou a 96,3%. Camundongos tratados com 200 mg/kg x 1, im e examinados 45 dias depois, mostraram que os vermes sobreviventes retomaram totalmente a sua capacidade de oviposição (Araújo, Kohn & Katz, 1991).

Os resultados do ensaio com o artesunato, em dose única oral, de 300 ou 500 mg/kg, ou durante cinco dias consecutivos, 45 dias após a infecção, mostraram diferenças significativas na distribuição e na mortalidade dos vermes e na alteração do oograma nos animais tratados, quando comparados ao controle, trinta dias após o tratamento. Quando os animais foram sacrificados, sessenta ou noventa dias após o tratamento, as diferenças entre os grupos, tratado e de controle, foram desaparecendo, mostrando que os vermes sobreviventes se recuperaram voltando para seu hábitat normal, os vasos mesentéricos, e reiniciaram a postura de ovos (Araújo, Kohn & Katz, 1999).

O arteméter produz deslocamento dos vermes para o fígado, que começa oito horas após a administração da droga e se completa no sétimo dia (Xiao & Catto, 1989). Após o tratamento, foi observado que os vermes adultos apresentam redução significativa do glicogênio (Xiao, Hotez & Tanner, 2000) e, embora apareça lentamente, há extensa e grave lesão do tegumento (Xiao et al., 2002). Também foram descritas alterações no aparelho reprodutor feminino, com diminuição do volume ovariano e rarefação dos folículos vitelínicos (Araújo, Kohn & Katz, 1999).

In vitro, a exposição dos vermes ao arteméter não revelou nenhuma atividade sobre os mesmos; todavia, quando foi acrescentada hemina, a atividade letal se manifestou. Parece, portanto, que o arteméter é ativado pela hemina, que faz a clivagem da ponte de endoperoxidase, gerando radicais livres que devem se ligar de forma covalente a proteínas específicas dos vermes (Xiao et al., 2001).

A associação de arteméter (150 mg/kg) e praziquantel (75 mg/kg) foi usada em *hamsters* infectados por formas jovens e adultas de *S. mansoni*. As drogas foram administradas simultaneamente ou com intervalos de horas ou de até sete dias. Os resultados mostraram que houve diminuição significativa do número de vermes com esta associação maior do que a obtida com o praziquantel isoladamente (Utzinger et al., 2003).

Por apresentar atividade acentuada contra os vermes imaturos, o arteméter vem sendo ensaiado, em áreas endêmicas, como droga profilática na esquistossomose, conforme será discutido adiante quando for abordada a terapêutica clínica.

DROGAS SUPRESSORAS

Drogas que têm ação específica sobre a oviposição da fêmea de *S. mansoni* têm sido descritas.

De fato, Campbell & Cuckler (1967) demonstraram que o nicarbazin, quando adicionado à dieta de camundongos, na concentração de 0,2%, não matava os vermes de *S. mansoni*, mas interrompia a

oviposição já a partir do segundo dia. A retirada dessa dieta permitia que as fêmeas retomassem completamente a sua capacidade de realizar a oviposição (Campbell & Cuckler, 1967). Esses dados foram confirmados por Pellegrino & Katz (1969). Todavia, a administração de até 1.000 mg/kg/dia por cinco dias consecutivos, por via oral, em camundongos infectados, mostrou-se totalmente inativa. Já em dois macacos *Cebus* tratados, por via oral, com dose de 400 mg/kg/dia por dois dias, seguida por 200 mg/kg/dia por dez dias, foi observada, por intermédio de curetagens retais seriadas, uma interrupção temporária da postura (Pellegrino & Katz, 1969).

Também a thiosinamina e a sulfona-mãe (diaminodifenilsulfona – DDS) foram ativas para a interrupção temporária da postura (Pellegrino, Katz & Dias, 1972; Pellegrino & Katz, 1975).

Agentes esterilizantes de roedores machos, bem como substâncias antifertilizantes, também têm essa atividade (Davies & Jackson, 1970).

Mais recentemente, foram publicados os resultados obtidos com um inibidor da síntese de colesterol, mevinolina, que, administrado a camundongos, bloqueou a produção de ovos de *S. mansoni*. Essa mesma droga, acrescentada a 2% na ração de camundongos infectados por *S. mansoni*, eliminou 96%-100% dos vermes adultos quando administrada por 14 dias e mais de 90% quando administrada por dois dias antes e 15 dias depois da infecção (Vandewaa et al., 1989).

A lovastatina, uma lactona (a forma inativa do ácido hidroxílico aberto), é também um potente inibidor da síntese endógena do colesterol. Essa droga foi ensaiada em camundongos infectados por *S. mansoni*, trinta dias após a infecção. Com as doses maiores (400 mg/kg/dia por um a cinco dias) por gavagem, foram observadas, trinta dias após o término do tratamento, alteração do oograma em respectivamente 20% e 42,9% dos animais tratados, bem como a presença de vermes mortos no fígado em 14,8% e 21,8%. Nos animais de controle (no caso, não tratados), não foram detectados alterações do oograma, nem vermes mortos. Em outro experimento, quando os animais com infecção de trinta dias foram tratados por gavagem, com a dose de 400 mg/kg/dia por cinco dias consecutivos e sacrificados em diferentes períodos pós-tratamento, foi visto que a ação sobre a alteração do oograma apareceu no 15º dia, quando também já havia um pequeno percentual de vermes mortos que foi aumentado aos trinta e sessenta dias. Mesmo dois meses após o tratamento, o efeito da droga persistia na maioria das fêmeas, no que se refere à parada da oviposição, inclusive com baixa acentuada do número de ovos no fígado dos animais tratados. Ao microscópio, foram observadas alterações degenerativas nos vermes, tendo as principais acometetido o aparelho reprodutor, com a redução e alteração dos folículos vitelínicos e do ovário das fêmeas e modificações nos testículos dos machos (Araújo et al., 2002). Essas drogas anticolesterolêmicas ainda não foram, mas deveriam ser, ensaiadas na clínica como agentes antiesquistossomose.

RESISTÊNCIA A DROGAS ESQUISTOSSOMICIDAS

Diferentes isolados e/ou cepas têm mostrado susceptibilidade maior ou menor (medida por mortalidade dos vermes em relação à mesma dose do medicamento utilizado no mesmo hospedeiro experimental), sejam cepas oriundas de uma mesma área ou região geográfica ou mesmo oriundas de diferentes indivíduos numa mesma comunidade.

Essas diferenças aparecem independentemente de esses indivíduos terem sido tratados ou não com quimioterápicos específicos, anteriormente. Na realidade, devem-se considerar dois conceitos importantes:

o da tolerância e o da resistência. Fala-se em tolerância quando uma cepa do verme, que nunca havia entrado em contato com a droga específica, apresenta resposta quimioterápica diminuída significativamente em relação a uma cepa padronizada de laboratório. Trata-se de resistência quando a falta da resposta aparece nos descendentes daqueles vermes que sobreviveram ao tratamento (Coles et al., 1986).

Por outro lado, essas definições não devem ser confundidas com falha terapêutica. De fato, as causas de falha terapêutica podem ser várias, dependendo dos fatores do hospedeiro (humano ou animal) que podem influenciar na resposta à droga, tais como: absorção da droga, metabolização, idade, sexo, associações mórbidas, fase da infecção, diferença entre cepas de animais de laboratório ou fatores do parasito, estádio evolutivo, balanço de sexos, ou mesmo diferente susceptibilidade à droga.

Portanto, a demonstração de resistência (ou susceptibilidade) deve ser feita em laboratório, mediante o tratamento de animais (camundongos) infectados com o isolado (ou cepa) de *S. mansoni* que se quer estudar, isso enquanto não se consegue um marcador (bioquímico ou molecular) que poderia vir a facilitar, e muito, a identificação dos vermes resistentes.

Desde a década de 1950, sabe-se que cepas de *S. mansoni* diferem na sua resposta ao tratamento às mesmas drogas. De fato, foi demonstrado que a cepa de *S. mansoni* do Egito mostrou-se seis vezes menos susceptível ao tratamento com miracil D do que a cepa da Libéria (Gönnert & Vogel, 1955). Em 1971, Rogers e Bueding relataram que camundongos infectados com uma cepa de *S. mansoni* proveniente de Porto Rico, quando tratados com hycanthone (60 mg/kg, im) apresentaram apenas parada temporária da postura, pois 12 meses após o tratamento todos os animais apresentavam ovos viáveis no fígado. Esses ovos foram colocados para eclodir e completaram o ciclo evolutivo normalmente. Camundongos infectados com essa descendência de vermes mostraram-se totalmente resistentes à ação do hycanthone (Rogers & Bueding, 1971). Utilizando-se de outros isolados e seguindo a mesma metodologia antes descrita, outros autores não obtiveram cepa resistente (Yarinsky et al., 1974; Dias & Oliver, 1986). Katz, Dias & Araújo (1973), pela primeira vez, descreveram cepas resistentes provenientes de dois pacientes tratados por duas vezes com hycanthone e que continuavam eliminando ovos de *S. mansoni* nas fezes. Fechado o ciclo com miracídios provenientes desses pacientes, foi possível mostrar experimentalmente em camundongos que essas cepas eram resistentes ao hycanthone e também menos susceptíveis ao niridazol e à oxamniquine.

Estudos posteriores realizados no Brasil, Egito, Quênia e Senegal não só confirmaram o encontro de cepas resistentes após o tratamento, mas também encontraram cepas tolerantes aos agentes esquistossomicidas oxamniquine ou praziquantel (Dias et al., 1978; Stelma et al., 1995). Também em laboratório foi possível obter uma cepa de *S. mansoni* altamente resistente partindo de um *pool* de isolados de diferentes regiões e tratando-os com praziquantel por sete vezes sucessivas (Fallon & Doenhoff, 1994).

Estudos bioquímicos e genômicos têm sido realizados comparando-se cepas resistentes e susceptíveis. Foi observado que a oxamniquine funciona como substrato para a sulfotransferase, que está presente nos esquistossomos susceptíveis, mas ausente nos vermes resistentes. Por outro lado, a inibição da síntese de ácidos nucléicos é irreversível nos vermes susceptíveis, mas apenas temporária nos vermes resistentes, e esta parece ser a principal ação da droga para a mortalidade dos vermes (Cioli, Pica-Mattoccia & Archer, 1995). Brindley et al. (1989) descreveram uma modificação genômica, caracterizada pela presença de polimorfismo do tamanho do fragmento de restrição, no DNA do verme de uma cepa resistente ao hycanthone. Esta modificação foi vista em uma em cada cem cópias do RNA ribosomal e é resultante de uma inserção de 732 nucleotídeos duplicados no gene do verme resistente (Brindley et al., 1989, 1991).

Esse achado não foi confirmado em outras cepas (Vieira et al., 1991), mas o estudo do polimorfismo genético de diferentes isolados e cepas poderá contribuir para a obtenção de um marcador de resistência a drogas (Dias Neto et al., 1993).

Trabalho muito informativo foi publicado por Cioli et al. (2004), mostrando os resultados obtidos, em três diferentes laboratórios (Roma, Itália; Gisa, Egito; e Bangor, Inglaterra), com nove diferentes isolados de *S. mansoni* em camundongos experimentalmente infectados e tratados com praziquantel. Quatro desses isolados não haviam tido contato prévio com a droga, e cinco já haviam demonstrado, em ensaios anteriores, resistência ao praziquantel, seja por indução e/ou seleção após tratamentos repetidos dos animais, seja por terem sido isolados de pacientes que não se curaram. Administração da ED_{50} (dose que mata 50% dos vermes adultos) foi feita em camundongos tratados com praziquantel nas doses totais de 125, 250, 500 e 1.000 mg/kg, divididas em cinco doses, administradas por cinco dias consecutivos e em infecções com 49 dias. Os animais foram sacrificados duas semanas após o ultimo dia de tratamento. Nas cepas consideradas susceptíveis, a ED_{50} estava sempre abaixo de 100 mg/kg (média de 70), enquanto nas resistentes presumíveis estava sempre acima de 100 mg/kg (média de 209), ou seja, uma diferença de três vezes entre os dois grupos de isolados.

Embora a diferença de resposta ao praziquantel tenha sido inquestionável e significativa, os autores concluem que a expectativa é que a droga continue útil por um longo período, ao contrário de outras drogas antiparasitárias, aí incluída a oxamniquine, pois o praziquantel, mesmo após vinte tratamentos consecutivos, teve apenas aumento de no máximo três vezes a dose curativa (Cioli et al., 2004).

REFERÊNCIAS

ANDREWS, P. et al. Praziquantel. *Medical Research Review*, 3: 147-200, 1983.

ARAUJO, N.; KOHN, A. & KATZ, N. Activity of the artemether in experimental schistosomiasis mansoni. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 86, supl. 2: 185-188, 1991.

ARAUJO, N.; KOHN, A. & KATZ, N. Therapeutic evaluation of artesunate in experimental *Schistosoma mansoni* infection. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 32: 7-12, 1999.

ARAUJO, N. et al. *Schistosoma mansoni*: ação da lovastatina no modelo murino. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 35: 35-38, 2002.

BAXTER, C. A. R. & RICHARDS, H. C. Schistosomicides. 1. Derivatives of 2-aminomethyl-1, 2, 3, 4-tetrahydroquinoline. *Journal of Medicinal Chemistry*, 14: 1.033-1.042, 1971.

BECKER, B. et al. Light and electron microscopic studies on the effect of praziquantel on *Schistosoma mansoni*, *Dicrocoelium dendriticum*, and *Fasciola hepatica* (Trematoda*) in vitro*. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 63: 113-128, 1980.

BERBERIAN, D. A. & FREELE, H. Chemotherapeutic Effect of Antischistosomal Drugs in experimentally induced *Schistosoma mansoni* infections in swiss mice and syrian *hamsters*. *The Journal of Parasitology*, 50: 435-440, 1964.

BRENER, Z. Quimioterapia da esquistossomose experimental. II Observações sobre a atividade terapêutica do cloridrato de glucosamina. *O Hospital*, 57: 1.069-1.073, 1960.

BRINDLEY, P. J. et al. Characterization of a programmed alteration in an 18S ribosomal gene that accompanies the experimental induction of drug resistance in *Schistosoma mansoni*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 88: 7.754-7.758, 1991.

BRINDLEY, P. J. & SHER, A. The chemotherapeutic effect of praziquantel against *Schistosoma mansoni* is dependent on host antibody response. *Journal of Immunology*, 139: 215-220, 1987.

BRINDLEY, P. J. et al. A genomic change associated with the development of resistance to hycanthone in *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 34: 99-108, 1989.

BUEDING, E. & PENEDO, N. Effects of alkyldibenzylamines on *Schistosoma mansoni. Federation Proceedings of the American Society of Experimental Biology*, 16: 286, 1957.

CAMPBELL, W. C. & CUCKLER, A. C. Inhibition of egg production of *Schistosoma mansoni* in mice treated with nicarbazin. *The Journal of Parasitology*, 53: 977-980, 1967.

CANÇADO, J. R. et al. Evaluation of the treatment of human *Schistosoma mansoni* infection by the quantitative oogram technique. *Bulletin of the World Health Organization*, 33: 557-566, 1965.

CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L. & ARCHER, S. Antischistosomal drugs: past, present and future? *Pharmacology & Therapeutics*, 68: 35-85, 1995.

CIOLI, D. et al. Determination of ED50 values for praziquantel in praziquantel-resistant and -susceptible *Schistosoma mansoni* isolates. *International Journal for Parasitology*, 34: 979-987, 2004.

COELHO, P. M. Z.; MELLO, R. T. & GERKEN, S. E. *Schistosoma mansoni*: evaluation of the activity of oxamniquine on schistosomules, at 24 hours after infection. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 15: 557-561, 1993.

COELHO, P. M.; LIMA E SILVA, F. C. & NOGUEIRA-MACHADO, J. A. Resistance to oxamniquine of a *Schistosoma mansoni* strain isolated from patient submitted to repeated treatments. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 39: 101-106, 1997.

COLES, G. C. et al. Drug resistance in schistosomiasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 80: 347, 1986.

COLES, G. C. et al. Tolerance of Kenyan *Schistosoma mansoni* to oxamniquine. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 81: 782-785, 1987.

CONCEIÇÃO, M. J.; ARGENTO, C. A. & CORREA, A. Study of *Schistosoma mansoni* isolates from patients with failure of treatment with oxamniquine. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95: 375-380, 2000.

DAVIES, P. & JACKSON, H. Experimental studies on the chemosterilization of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 61: 167-176, 1970.

DAY, T. A.; BENNETT, J. L. & PAX, R. A. Praziquantel: the enigmatic antiparasitic. *Parasitology Today*, 8: 342-344, 1992.

DIAS, L. C. S. & OLIVER, C. E. Failure at inducing resistance to schistosomicidal drugs in Brasilian human strain of *Schistosoma mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 28: 352-357, 1986.

DIAS, L. C. S.; PEDRO, R. J. & DEBELARDINI, E. R. Use of praziquantel in patientes with schistosomiasis mansoni previosly treated with oxamniquine and for hycanthone: resistance of *Schistosoma mansoni* to schistosomicidal agents. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 76: 652-659, 1982.

DIAS, L. C. et al. A human strain of *Schistosoma mansoni* resistant to schistosomicides. *Revista de Saúde Pública*, 12: 110, 1978.

DIAS NETO, E. et al. The random amplification of polymorphic DNA allows the identification of strains and species of schistosome. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 57: 83-88, 1993.

DOENHOFF, M. J. et al. Evidence for an immune-dependent action of praziquantel on *Schistosoma mansoni* in mice. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 81: 947-951, 1987.

DRESCHER, K. M. et al. Response of drug resistant isolates of *Schistosoma mansoni* to antischistosomal agents. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 88: 89-95, 1993.

FALLON, P. G. & DOENHOFF, M. J. Drug-resistant schistosomiasis: resistance to praziquantel and oxamniquine induced in *Schistosoma mansoni* in mice is drug specific. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 51: 83-88, 1994.

FOSTER, R. The preclinical development of oxamniquine. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 15: 1-9, 1973.

FOSTER, R. & CHEETHAM, B. L. Studies with the schistosomicide oxamniquine (UK-4271). I. Activity in rodents and *in vitro*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 67: 674-684, 1973.

FOSTER, R.; CHEETHAM, B. L. & KING, D. F. Studies with the schistosomicide oxamniquine (UK-4271). II. Activity in primates. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 67: 685-693, 1973.

FOSTER, R. et al. The control of immature *Schistosoma mansoni* in mice by UK 3883, a novel 2-aminomethyltetrahydroquinoline derivative. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 65: 221-232, 1971a.

FOSTER, R. et al. The action of UK 3883, a novel 2-aminomethyltetrahydroquinoline derivative, against mature schistosomes in rodents and primates. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 65: 59-70, 1971b.

GÖNNERT, R. Schistosomiasis studies. II. Übedie Eibildung bei *Schistosoma mansoni* und das Schicksal der Eier Wirtsorganismus. *Zeitschrift für Tropenmedizin und Parasitologie*, 6: 33-52, 1955.

GÖNNERT, R. & ANDREWS, P. Praziquantel, a new board-spectrum antischistosomal agent. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 52: 129-150, 1977.

GÖNNERT, R. & VOGEL, H. Dependence on host and parasite strain of the successful therapy of experimental schistosomiasis. *Zeitschrift für Tropenmedizin und Parasitologie*, 6: 193-198, 1955.

ISMAIL, M. et al. Resistance to praziquantel: direct evidence from *Schistosoma mansoni* isolated from Egyptian villagers. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 60: 932-935, 1999.

KAYE, B. & WOOLHOUSE, W. M. The metabolism of a new schistosomicide 2-isopropylaminomethyl-6-methyl-7-nitro-1, 2, 3, 4-tetrahydroquinoline (UK 3883). *Xenobiotica*, 2:169-178, 1972.

KATZ, N. & PELLEGRINO, J. Experimental chemotherapy of schistosomiasis mansoni. *Advances in Parasitology*, 12: 369-390, 1974a.

KATZ, N. & PELLEGRINO, J. Studies of various aspects of schistosomiasis mansoni in *Cebus* monkeys using the quantitative oogram method. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 16: 245-252, 1974b.

KATZ, N.; PELLEGRINO, J. & MEMORIA, J. M. Quantitative oogram method in *Cebus* monkeys experimentally infected with *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology*, 52: 917-919, 1966.

KATZ, N.; ROCHA, R. S. & CHAVES, A. Preliminary trials with praziquantel in human infections due to *Schistosoma mansoni*. *Bulletin of the World Health Organization*, 57: 781-785, 1979.

KATZ, N. et al. Estudo de uma cepa humana de *Schistosoma mansoni* resistente a agentes esquistossomicidas. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 7: 381-387, 1973.

KHAYYAL, M. T. Significance of worm shifts in experimental schistosomiasis mansoni, with emphasis on the action of anaesthetics. *Nature*, 27: 1.331-1.332, 1965.

KOHN, A. et al. Ação da oxamniquine sobre o *Schistosoma mansoni* em camundongos experimentalmente infectados. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 21: 217-227, 1979.

MEHLHORN, H. et al. *In vivo* and *in vitro* experiments on the effects of praziquantel on *Schistosoma mansoni*. A light and electron microscopic study. *Arzneimittel-Forschung*, 31: 544-554, 1981.

PELLEGRINO, J. & KATZ, N. Experimental chemotherapy of schistosomiasis mansoni. *Advances in Parasitology*, 6: 233-290, 1968.

PELLEGRINO, J. & KATZ, N. Experimental chemotherapy of schistosomiasis. IV. Oogram studies with nicarbazin, an egg-suppressive agent. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 11: 215-221, 1969.

PELLEGRINO, J. & KATZ, N. Experimental therapy of schistosomiasis. X. diaminodiphenylsulfone (DDS) in experimental schistosomiasis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 17: 199-205, 1975.

PELLEGRINO, J.; DE MARIA, M. & FARIA, J. Infection of the golden *hamster* with *Schistosoma mansoni* cercariae through the cheek pouch. *The Journal of Parasitology*, 51: 1.015, 1965.

PELLEGRINO, J. & MACHADO, A. Experimental chemotherapy of schistosomiasis. VI –Egg suppressive activity of thiosinamine. *Revista Brasileira de Pesquisas Médicas e Biológicas*, 5: 43-45, 1972.

PELLEGRINO, J.; KATZ, N. & DIAS, E. P. Experimental chemotherapy of schistosomiasis. VII – Laboratory trials with oxamniquine, a new antischistosomal agent. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 15, supl. 1: 10-14, 1973.

PELLEGRINO, J. et al. New approach to the screening of drugs in experimental *Schistosoma mansoni* in mice. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 11: 201-215, 1962.

PELLEGRINO, J. et al. Experimental chemotherapy of schistosomiasis mansoni. XIII. Activity of praziquantel, an isoquinoline-pyrazino derivative, on mice, *hamsters* and *Cebus* monkeys. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 52: 151-168, 1977.

PICA-MATTOCCIA, L. & CIOLI, D. Sex- and stage-related sensitivity of *Schistosoma mansoni* to *in vivo* and *in vitro* praziquantel treatment. *International Journal for Parasitology*, 34: 527-533, 2004.

PRATA, A. Biopsia retal na Esquistossomose Mansônica: bases e aplicações no diagnóstico e tratamento. Rio de Janeiro: Serviço Nacional de Educação Sanitária, 1957.

PUGH, R. N. & TEESDALE, C. H. Synergy of concurrent low dose of oxamniquine and praziquantel in schistosomiasis. *British Medical Journal*, 287: 877-878, 1983.

RAISON, C. G. & STANDEN, O. D. The schistosomicidal activity of symmetrical diaminodiphenoxyalkanes. *British Journal of Pharmacology*, 10: 191-199, 1955.

RICHARDS, H. C. & FOSTER, R. A new series of 2-aminomethyltetrahydroquinoline derivatives displaying schistosomicidal activity in rodents and primates. *Nature*, 222: 581-582, 1969.

ROGERS, S. H. & BUEDING, E. Hycanthone resistance: development in *Schistosoma mansoni. Science*, 172: 1.057-1.058, 1971.

SABAH, A. A. et al. *Schistosoma mansoni:* reduced efficacy of chemotherapy in infected T-cell-deprived mice. *Experimental Parasitology*, 60: 348-354, 1985.

SHAW, J. R. & BRAMMER, K. W. The treatment of experimental schistosomiasis with a combination of oxamniquine and praziquantel. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 77: 39-40, 1983.

STANDEN, O. D. Chemotherapy of helminthic infections. In: SCHNITZER, R. J. & HAWKING, F. *Experimental Chemotherapy*. New York, London: Academic Press Inc., 1963. v. I

STELMA, F. F. et al. Efficacy and side effects of praziquantel in an epidemic focus of *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 53: 167-170, 1995.

UTZINGER, J. et al. Combination chemotherapy of schistosomiasis in laboratory studies and clinical trials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47: 1.487-1.495, 2003.

VANDEWAA, E. A. et al. Physiological role of HGM-CoA reductase in regulating egg production by *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Physiology*, 257: 618-625, 1989.

VIEIRA, L. Q. et al. Genomic variability in field populations of *Schistosoma mansoni* in Brazil as detected with a ribosomal gene probe. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 44: 69-78, 1991.

WEBBE, G. & JAMES, C. A comparison of the susceptibility to praziquantel of *Schistosoma haematobium*, *S. japonicum*, *S. mansoni, S. intercalatum* and *S. mattheei* in *hamsters*. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 52: 169-177, 1977.

WU, M. H. et al. Comparison of the therapeutic efficacy and side effects of a single dose of levo-praziquantel with mixed isomer praziquantel in 278 cases of schistosomiasis japonica. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 45: 345-349, 1991.

XIAO, S. H. & CATTO, B. A. Comparative *in vitro* and *in vivo* activity of racemic praziquantel and its levorotated isomer on *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Infectious Diseases*, 159: 589-592, 1989a.

XIAO, S. H. & CATTO, B. A. *In vitro* and *in vivo* studies of the effect of artemether on *Schistosoma mansoni*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33: 1.557-1.562, 1989b.

XIAO, S. H.; HOTEZ, P. J. & TANNER, M. Artemether, an effective new agent for chemoprophylaxis against schistosomiasis in China: its *in vivo* effect on the biochemical metabolism of the Asian schistosome. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 31: 724-732, 2000.

XIAO, S. et al. Therapeutic effect of praziquantel enantiomers in mice infected with *Schistosoma mansoni. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 93: 324-325, 1999.

XIAO, S. H. et al. Artemether administered together with haemin damages schistosomes *in vitro*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 95: 67-71, 2001.

XIAO, S. H. et al. Recent investigations of artemether, a novel agent for the prevention of schistosomiasis japonica, mansoni and haematobia. *Acta Tropica*, 82: 175-181, 2002.

YARINSKY, A. et al. An 18-month study of the parasitologic and tumorigenic effects of hycanthone in *Schistosoma mansoni*-infected and noninfected mice. *Toxicology and applied Pharmacology*, 27: 169-182, 1974.

29 Terapêutica Clínica na Esquistossomose Mansoni

Naftale Katz

Pacientes aguardando para serem atendidos e tratados no posto de saúde de Água Branca, distrito de Comercinho, Minas Gerais.

Há quase um século, o tártaro emético (tartarato de antimônio e potássio) foi introduzido como primeiro agente terapêutico da esquistossomose (Christopherson, 1918). Em seguida, vários sais de antimônio foram introduzidos em uso clínico, a saber, tartarato de antimônio e sódio, disulfonato-bis-pirocatecol de sódio e antimônio (Stibofen®), tiomalato de antimônio e sódio (Anthiomaline®) e gluconato de antimônio e sódio (Tiostam®) administrados por via intramuscular ou intravenosa. Essas drogas produziam um grande número de efeitos colaterais e tóxicos, não raramente levando os pacientes a morte súbita por *fragmentatio cordis.* Por conta disso, tiveram o seu uso proscrito (Dias, 1949).

Durante a Segunda Guerra Mundial, cientistas da indústria farmacêutica Bayer, na Alemanha, desenvolveram o lucanthone (miracil D), mantido em sigilo até o fim da guerra. Com a vitória dos Aliados, essa descoberta foi incorporada pela indústria farmacêutica americana (Sterling Winthrop), passando a ser o primeiro agente esquistossomicida conhecido de uso oral. Todavia, de maior importância foram os estudos posteriores, já na década de 1960, quando a hidrometilação do lucanthone (miracil D) deu origem a uma droga ativa tanto por via muscular como por via oral, em dose única, denominada hycantone (Archer & Yarinsky, 1972). Infelizmente, efeitos tóxicos graves apareceram com o uso do hycantone, causando óbitos (muitos no Brasil) por atrofia amarela aguda do fígado (Andrade et al., 1974), levando novamente a que a terapêutica da esquistossomose ficasse sem opção, a não ser o uso do niridazol (AmbiharR), que, embora de uso oral, exigia administração da droga por cinco a sete dias, com tolerância baixa, especialmente causando convulsão e alucinação, além de apresentar mutagenicidade, carcinogenicidade e de ser embriotóxica e imunossupressora (Katz, 1977).

Na década de 1970, iniciam-se os estudos com a oxamniquine (Pfizer, Inglaterra), droga de tolerância boa e percentual de cura alto, especialmente no Brasil e em outros países do continente americano, mas sem os mesmos bons resultados terapêuticos no Egito e no lado oriental e central da África. No fim daquela década, aparece o praziquantel (descoberta alemã da indústria Merck, desenvolvida em conjunto com a Bayer), que, por apresentar tolerância boa e ação terapêutica marcante, ser ativo contra todas as espécies de *Schistosoma* que parasitam o homem, pode ser usado em larga escala, em dose única oral e com preço baixo. É atualmente considerada a droga de escolha para o tratamento clínico e uso em saúde pública nas áreas endêmicas da esquistossomose.

Neste capítulo serão revistos os estudos clínicos na esquistossomose mansoni com oxamniquine e praziquantel, bem como os derivados da artemisina (drogas desenvolvidas na República Popular da China, inicialmente para tratamento da malária), os problemas recentemente encontrados de resistência dos parasitos às drogas esquistossomicidas, a associação de drogas e, finalmente, os resultados obtidos com o uso desses agentes visando o controle da esquistossomose em zonas endêmicas.

Para conhecimento das outras drogas utilizadas previamente no tratamento da esquistossomose, bem como para conhecimentos mais extensos e detalhados das drogas utilizadas atualmente, existem várias revisões que devem ser consultadas, entre as quais estão as de Werbel (1970), Archer & Yarinsky (1972), Katz & Pellegrino (1974), Katz (1977), Davis (1993), Cioli, Pica-Mattoccia & Archer (1995). Recomenda-se especialmente o excelente livro de John Farley (1991) sobre a história da esquistossomose desde sua descoberta, passando por fatos pitorescos sobre a terapêutica.

OXAMNIQUINE

Em 1964, a indústria farmacêutica Pfizer (Sandwich, Inglaterra) iniciou um programa específico para o desenvolvimento de um novo agente esquistossomicida. Esses estudos tiveram como base inicial a análise de um grupo químico, aminoalquiltolueno. Este grupo havia sido investigado inicialmente nos Laboratórios Bayer (Eberfeld, Alemanha) durante a Segunda Guerra Mundial, e se tornou objeto de publicações após o fim da Guerra (Kikuth & Gönnert, 1948), quando as patentes (e todo o acervo de pesquisas) já estavam nas mãos dos vencedores (Estados Unidos, Inglaterra e União Soviética).

O composto mais ativo desse grupo, com estrutura semelhante ao lucanthone (miracil D), foi denominado mirasan. Seguindo processo semelhante ao observado com o lucanthone, que após hidroximetilação deu origem a um novo composto, muito mais ativo, o hycanthone (Etrenol[R]), a oxidação do UK-3883, pelo fungo *Aspergillus sclerotiorium*, deu origem ao UK-4271, posteriormente denominado oxamniquine (Foster, 1973).

Esse novo agente esquistossomicida recebeu o nome comercial de Mansil[R], que é uma mistura das palavras '*mansoni*' e 'Brasil', onde foram realizados os primeiros ensaios clínicos com essa droga.

A oxamniquine é uma droga de cor amarelada, pouco solúvel em água. As cápsulas contêm 250 mg e a suspensão, 250 mg em 5 ml. Por ser um produto que necessita de uma etapa de fermentação, continuaram a ser fabricadas unicamente pela Pfizer. A falta de concorrência manteve o alto preço dessa droga, o que nos últimos anos fez com que seu uso diminuísse muito. Seguramente mais de 13 milhões de tratamentos já foram feitos no Brasil, não havendo relato de óbito relacionado ao uso do medicamento.

O primeiro ensaio clínico realizado no Brasil revelou que a oxamniquine administrada por via intramuscular na dose única de 7,5 mg/kg foi bem tolerada e muito eficiente. De fato, o único efeito colateral observado foi dor no local da aplicação. Todos os nove pacientes tratados foram considerados curados, inclusive os quatro que se encontravam nos primeiros meses de infecção (cinco a nove meses após contágio) (Katz et al., 1973). Posteriormente, novos ensaios foram realizados, por diversos grupos de investigadores no país, sendo sempre obtidos resultados semelhantes, ou seja, poucos efeitos colaterais (a não ser dor no local da aplicação, às vezes muito intensa, na maioria dos tratados com persistência por três a sete dias) e atividade terapêutica com eficácia em torno de 90% (ver Katz, 1973b). No suplemento em questão foram apresentados ensaios realizados na África, e os resultados dos ensaios no Quênia foram semelhantes aos obtidos no Brasil; já na antiga Rodésia (Zimbábue), praticamente não houve cura, e na Tanzânia os resultados também foram parecidos com os vistos no Brasil, mas com a dose quatro vezes maior, ou seja, 30 mg/kg.

Portanto, desde os primeiros ensaios pôde-se concluir que a oxamniquine por via intramuscular, na dose de 7,5 mg/kg, é bem tolerada (com exceção da dor local), com poucos efeitos tóxicos, e apresenta elevada atividade terapêutica; já na África oriental, embora a tolerância também tenha sido boa, o percentual de cura foi muito menor, mesmo com doses bem maiores que as ensaiadas no Brasil. Devido à dor local persistente, o laboratório produtor passou a fabricar a droga para uso oral. Ensaios clínicos no Brasil mostraram que a dose única oral de 15 mg/kg para adultos e 20 mg/kg para crianças apresentava boa tolerância, poucos efeitos tóxicos e índice de cura de 80% a 90% em adultos e de 65% a 90% em crianças (Silva et al., 1974; Katz et al., 1976; Katz, Zicker & Pereira, 1977). Os efeitos colaterais mais comumente observados após a administração da oxamniquine, nas doses acima preconizadas, são tonturas, náuseas,

cefaléia e sonolência, menor freqüência nas dores abdominais e vômitos. Essa sintomatologia surge uma a duas horas após a administração da droga e persiste na maioria dos casos por 24 horas. Em cerca de 0,5% dos casos tratados se observou irritabilidade, excitabilidade, alucinação ou convulsão. Exames complementares revelaram elevação dos níveis de transaminases plasmáticas, leucopenia, hematúria e/ou proteinúria em alguns pacientes. Alterações nos traçados eletroencefalográficos e eletrocardiográficos também foram encontrados (Silva et al., 1974; Katz et al., 1976; Katz, Zicker & Pereira, 1977; Bina & Spinola, 1976; Domingues & Coutinho, 1975; Katz, 1980). Pela segunda vez, houve uma reunião internacional no Brasil para a apresentação dos dados clínicos com participação de cientistas nacionais, do Egito e de outros países africanos. Os trabalhos apresentados foram publicados na *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 22 (supl. 4): 1-116 (em inglês) ou 22 (supl. 4): 117-238 (em português). Destes, vale destacar a confirmação de que a posologia para o tratamento das crianças (até 15 anos) infectadas com esquistossomose no Brasil deve ser maior (20 a 25 mg/kg) do que a utilizada em adultos (15 mg/kg). Foi ainda relatado que em um paciente previamente tratado com hycanthone (2,5 mg/kg, por via im) e não curado foi administrada a oxamniquine na dose de 14 mg/kg, dose única oral. Esse paciente continuou eliminando ovos viáveis de *S. mansoni* nas fezes, tendo fechado o ciclo com esse isolado (denominado MAP). A primeira e a segunda geração dos vermes obtidos experimentalmente de camundongos mostraram-se resistentes ao tratamento com hycanthone e oxamniquine, embora susceptíveis ao niridazol (Pedro et al., 1980).

Biópsias hepáticas realizadas antes e após tratamentos de pacientes esquistossomóticos não revelaram alterações que pudessem estar relacionadas ao uso da droga (Pedro et al., 1980; Andrade, Santos & Grimaud, 1980). Também não houve exacerbação das condições clínicas, histológicas ou patofisiológicas em 92 pacientes com formas hepatoesplênicas da esquistossomose associadas ou não às formas cardiopulmonares, com ou sem cianose, nefropatia e com presença de salmonelose crônica ou hepatite viral crônica. Coutinho e Domingues sugerem que, naqueles casos em que possa haver manifestações de hipersensibilidade, particularmente naquelas com formas cardiopulmonares severas, devem ser associados corticoesteróides à oxamniquine (Coutinho & Domingues, 1980). É interessante relatar a existência, na literatura, de reações de broncoespasmo e outras manifestações pulmonares e renais quando se usa a oxamniquine, provavelmente relacionadas à hipersensibilidade do organismo à mortalidade dos vermes, causada pelo agente esquistossomicida (Coutinho et al., 1988; Silva, 1974; Silva et al., 1978; Pedroso, 1978).

A oxamniquine também revelou ser um agente útil no tratamento da esquistossomose recente, produzindo percentual de cura semelhante ao observado na fase crônica. Os bons resultados clínicos, laboratoriais e anatomopatológicos associados à ausência de efeitos mutagênicos importantes ou teratogênicos e/ou carcinogênicos em animais de laboratório indicavam a possibilidade do amplo uso da oxamniquine no corpo. De fato, os ensaios realizados por Coura et al. (1980), Katz, Rocha & Pereira (1980), Prata et al. (1980), entre outros, demonstraram boa aceitação pela população pesquisada e impacto imediato sobre as manifestações clínicas, proporcionando o bem-estar dos tratados, e sobre a prevalência da parasitose em áreas endêmicas. Também deve ser destacado o desaparecimento dos sinais e sintomas causados pela infecção esquistossomótica, com diminuição, inclusive, do tamanho do fígado e do baço, verificável alguns meses após o tratamento com os esquistossomicidas. Estes resultados tão favoráveis permitiram pela primeira vez que uma droga, em dose única e por via oral, pudesse ser aplicada a milhares de pessoas, sem grandes riscos, pelo ministério da Saúde do governo federal brasileiro por

iniciativa do Programa Especial de Controle da Esquistossomose (Pece). De fato, nesse Programa foram tratados milhões de brasileiros, inicialmente nos estados nordestinos, posteriormente na Bahia e em Minas Gerais (Camargo, 1980).

Após mais de 13 milhões de tratamentos realizados nas zonas endêmicas de esquistossomose no Brasil, sem relato de efeitos tóxicos ou adversos sérios, pode-se concluir que a oxamniquine é uma droga bem tolerada e com boa atividade terapêutica, para tratamento individual ou em larga escala, chamando a atenção que apenas o seu preço elevado é um fator limitante a sua maior disseminação, principalmente como medida de saúde pública.

É sugerida a leitura de duas revisões, para aqueles que querem mais detalhes a respeito da oxamniquine: a de Foster (1987), em que é revista a experiência clínica com a droga; e a de Cioli, Pica-Mattoccia & Archer (1995), para conhecimento de mecanismos de ação e farmacologia da oxamniquine.

PRAZIQUANTEL

Essa droga descoberta na década 1970, nos laboratórios da indústria farmacêutica (Merck, Darmstad, Alemanha), teve seu desenvolvimento realizado em conjunto com os laboratórios Bayer. É curioso destacar que originalmente o grupo químico pirazino-isoquinolina (ao qual o praziquantel pertence) foi utilizado para encontro de novos tranqüilizantes (Groll, 1984). Por outro lado, mesmo após a comprovação no Brasil e em diferentes países do mundo de sua utilidade como esquistossomicida, em nosso país foi lançada comercialmente para tratamento de cestóides, daí o nome comercial de Cestox[R] e Cisticide[R] , ao contrário do que ocorreu na África e na Ásia, onde é conhecido como Biltricide[R] ou Distocide[R]. O praziquantel (inicialmente Embay 8.440) foi selecionado após síntese de mais de quatrocentos compostos e apresenta ação anti-helmíntica polivalente.

O praziquantel produzido pela Bayer tem 600 mg por comprimido. Deve-se destacar que, menos de um ano após o registro da patente pelas indústrias farmacêuticas alemãs, a República Popular da China desenvolveu processo próprio de síntese do praziquantel e iniciou sua fabricação com o nome de Pyquiton[R]. Posteriormente, Shim Poong Pharmaceutical Company na Coréia do Sul, Eipico no Egito e Farmanguinhos no Brasil também passaram a produzir essa droga, o que levou a uma queda substancial do preço do medicamento (atualmente sete centavos de dólar americano por comprimido). Destaque-se que Eipico, no Egito, desenvolveu uma formulação oral líquida, própria para administração em crianças.

A absorção do praziquantel é rápida, pois a concentração máxima no soro é observada de duas a quatro horas após a ingestão. Também o processo metabólico da droga é rápido, com meia vida no plasma de uma hora. A concentração plasmática é influenciada pela dose, pela quantidade e qualidade da refeição e pela formulação da droga (Leopold et al., 1978; Dayan, 2003). Uma dieta rica em carboidratos aumenta a absorção da droga no homem (Mandour et al., 1990). Até 80% do praziquantel ligam-se às proteínas plasmáticas (Steiner et al., 1976). A eliminação da droga ocorre principalmente pela urina (80%), sendo o restante encontrado nas fezes e na bile. O metabolismo nos pacientes portadores da esquistossomose e nos animais infectados é menor do que nos animais não infectados. Em indivíduos saudáveis, em 15 minutos após a ingestão oral de praziquantel marcado com carbono radioativo (C-14) já se encontram 80% de metabólitos. Os principais metabólitos são: mono e diidroxi derivados do praziquantel (Dollery, 1999).

O praziquantel pode ser detectado no leite humano, mas em quantidades muito pequenas (apenas 0,0008%) (Cioli, Pica-Mattoccia & Archer, 1995). A administração conjunta de cloroquina ou previamente de carbamazepina e fenitoína podem reduzir a biodisponibilidade do praziquantel (Bittencourt, Garcia & Martins, 1982; Masimirembwa & Hasler, 1994).

Desde o início dos ensaios clínicos com praziquantel, a indústria farmacêutica contou com o apoio da Organização Mundial da Saúde (OMS) para a realização dos ensaios, com protocolos padronizados. Os primeiros ensaios clínicos foram realizados no Brasil, em pacientes infectados por *Schistosoma mansoni*, por Katz, Rocha & Chaves (1979); no Zâmbia, em pacientes com *S. haematobium*, por Davis & Wegner (1979); e no Japão e nas Filipinas, em pacientes com *S. japonicum*, por Ishisaki, Kamo & Boehme (1979) e Santos et al. (1979).

As doses recomendadas foram de 30 a 40 mg/kg (dose única) para *S. haematobium*, 40-50 mg/kg (divididos em duas doses) para *S. mansoni* e 60 mg/kg para *S. japonicum* (divididos em duas doses). Com essas doses foram obtidos de 80% a 90% de cura parasitológica. Os efeitos adversos mais freqüentes foram dores abdominais, diarréia, náusea, vômito e anorexia. Quanto ao sistema nervoso central foram detectados: cefaléia, tonturas, cansaço e, menos freqüentemente, a sensação descrita pelos pacientes como 'cabeça oca' e a sensação de quente e frio; outras reações colaterais foram o aumento da temperatura corporal e manifestações na pele, como prurido e urticárias. Essas reações aparecem algumas horas após a ingestão da droga com duração, na quase totalidade dos casos, de 24 a 48 horas (Katz, Rocha & Chaves, 1979; Davis & Wegner, 1979; Ishizaki, Kamo & Boehme, 1979; Santos et al., 1979).

As manifestações cutâneas às vezes aparecem quatro a seis dias após o tratamento, o que leva alguns pesquisadores a acreditarem que se trata de uma reação do organismo à liberação de substâncias devido à morte dos vermes. Alterações laboratoriais observadas foram principalmente o aumento da eosinofilia, mas também discretas alterações eletrocardiográficas.

Uma comissão internacional que reviu os estudos de mutagenicidade com drogas esquistossomicidas concluiu que o praziquantel não apresentou genotoxicidade nos esquemas utilizados (Kramers et al., 1991).

Ensaios realizados em pacientes com forma hepatoesplênica apresentaram bons resultados (Coutinho et al., 1984; Bassily et al., 1985). Quando havia acometimento cerebral por *S. mansoni*, *S. haematobium* ou *S. japonicum*, o praziquantel isolado ou em associação com corticóides também apresentou bons resultados (Watt et al., 1986; Scrimgeour & Gajdusek, 1985). Na fase aguda da esquistossomose mansoni o praziquantel também revelou seu bom potencial curativo (Katz et al., 1980; Lambertucci, 1993; Farid et al., 1987).

Alguns autores têm preconizado o aumento da dosagem do praziquantel, visando melhorar o índice de cura, propondo esquemas de duração prolongada de até cinco dias (Cunha, Cançado & Rezende, 1987; Ferrari et al., 2003). É evidente que, quando o objetivo é o tratamento em larga escala em zonas endêmicas, este último esquema revela-se inviável. Mesmo para o tratamento individual, o aumento do percentual de cura observada não o justifica. Para os pacientes não curados é melhor repetir o tratamento com a mesma droga inicial e, se mesmo assim não houver cura, usar outra droga (Katz et al., 1991).

Uma questão que tem surgido freqüentemente é se mulheres grávidas (ou com idade apropriada para engravidar) e aquelas que estão amamentando deveriam ser tratadas especificamente. Como, até o presente, não foram realizados ensaios clínicos controlados em mulheres nessas condições, o Food and Drug Administration (FDA), agência que controla e libera os medicamentos nos Estados Unidos da América,

classificou o praziquantel na categoria B no que se refere à gravidez, isto é, 'droga presumidamente segura baseado em estudos animais'. Isso levou a maioria dos programas de controle a excluírem as mulheres grávidas e aquelas que estão amamentando. Em trabalho recente, fundamentado nos casos existentes na literatura, Olds (2003) propõe que as mulheres grávidas sejam tratadas. Por outro lado, para aquelas que estejam amamentando, recomenda-se que seja feita a interrupção da amamentação materna por 48 horas, para poderem também ser submetidas ao tratamento com praziquantel.

A administração da cimetidina bloqueia o metabolismo do praziquantel em ratos, aumentando significativamente a concentração do esquistossomicida no soro dos animais. A mesma ação também foi revelada para o cetoconazol e o miconazol no metabolismo do praziquantel (Diekmann, Schneidereit & Overbosch, 1989). Foi mostrado que o uso conjugado do praziquantel (200 mg/kg por dois dias seguidos) e da cimetidina (mesma dosagem) produziu 100% de mortalidade dos vermes (Ebeid et al., 1994). Posteriormente, a associação praziquantel (25 mg/kg x três, com intervalos de duas horas entre as doses) e cimetidina (400 mg, antes de cada dose) foi utilizada com resultados bons para o tratamento da neurocisticercose em apenas um dia (Overbosch, 1992; Corona et al., 1996; Lópes-Gomes et al., 2001). Também foram obtidos resultados semelhantes quando a cimetidina foi substituída por uma dieta rica em carboidratos (650 calorias), administrada trinta minutos antes do praziquantel (Lópes-Gomes et al., 2001). Infelizmente, os autores não detalharam a dieta utilizada. Todavia, os dados desses autores concordam com os de Mandour et al. (1990), quando utilizaram dieta constituída de óleo, feijão e pão de trigo, mas deve-se chamar a atenção para o trabalho de Metwally et al. (1995), que encontraram diminuição da concentração do praziquantel em soros de pacientes quando essa droga foi administrada conjuntamente com 50 g de glicose ou 2 g de bicarbonato. Assim, parece não ser a glicose (ou ela isoladamente) a responsável pelo aumento do nível de praziquantel no plasma. O uso concomitante da cimetidina com o praziquantel aumenta significativamente, em até duas vezes e meia, a biodisponibilidade dessa última droga (Overbosch, 1992; Corona et al., 1996).

A cimetidina é um inibidor do citocromo P_{450} e antagonista do receptor H_2 da histamina, e é essa inibição que deve ser a responsável pelo aumento da concentração do praziquantel no plasma, mediante inibição da degradação metabólica dessa droga pelo fígado, quando as duas drogas são administradas conjuntamente em animais de laboratório ou no homem (Overbosch, 1992). O mesmo efeito foi revelado pela cimetidina quando em administração conjunta com anticoagulantes orais, teofilina e mebendazol (Brosen, 1990; Bekhti & Piroti, 1987). O uso concomitante de corticoesteróides e praziquantel diminui a biodisponibilidade deste último (Vásquez, Jung & Sotelo, 1987); mesmo assim, essa associação tem sido recomendada para diminuição das reações inflamatórias, seja na neurocisticercose ou na forma toxêmica da esquistossomose aguda, mas as drogas devem ser administradas com algumas horas de intervalo entre elas.

Ensaio multicêntrico, duplo-cego, foi realizado por quatro grupos de pesquisadores brasileiros. Esse estudo, patrocinado pela Merck, foi desenhado para comparar a tolerância e atividade do praziquantel com a oxamniquine (Rezende, 1985). Ambos os medicamentos foram administrados por via oral em dose única, na média de 55 mg/kg de peso corporal para praziquantel e 16 mg/ kg para a oxamniquine. A idade dos indivíduos variou de oito a 65 anos, com uma média de 20,6 anos, sendo 25% abaixo de 15 anos e 9% acima de trinta; 7% eram pacientes com forma aguda, 70% com forma intestinal ou hepatointestinal e 5%, forma hepatoesplênica. Em torno de 80% apresentaram carga parasitária (medida pelo número de ovos de

S. mansoni nas fezes, pelo método de Kato-Katz) de baixa ou média intensidade, isto é, até 500 ovos/grama (Katz, Chaves & Pellegrino, 1972). Foram tratados em torno de 270 pacientes com cada uma das drogas. A incidência e gravidade dos efeitos colaterais foram semelhantes nos dois grupos tratados, porém desconforto abdominal e diarréia foram significativamente mais freqüentes com praziquantel e tontura, com oxamniquine. Também no grupo tratado com praziquantel foram observados, como efeitos colaterais importantes, reação urticariforme em dois casos, prurido e febre em quatro casos e, no grupo com oxamniquine, um caso de convulsão. Outros efeitos colaterais observados com maior freqüência foram tonturas, cefaléia, náusea, vômito e diarréia. A cura parasitológica (revelada por pelo menos três exames de fezes no sexto mês pós-tratamento) foi de 75,5% para o praziquantel e de 69,8% para a oxamniquine, não havendo, portanto, relevante diferença estatística entre os dois grupos. Nos pacientes não curados houve redução significativa de 88,6% e 74,6% na média do número de ovos eliminados por grama de fezes, respectivamente para o praziquantel e a oxamniquine (Rezende, 1985). Esse ensaio foi importante para concluir que no Brasil as duas drogas equivalem-se em efeitos adversos e atividade de cura e ambas podem ser consideradas bons esquistossomicidas, seja para o tratamento na clínica médica, seja para o uso em programas de saúde pública.

Já foram administrados mais de 53 milhões de doses de praziquantel, especialmente no Egito, Brasil, China e Filipinas, sem registro de nenhum caso fatal (Fenwick et al., 2003).

DERIVADOS DA ARTEMISINA

A artemisina é o princípio ativo das folhas de *Arthemisia annua*, planta utilizada há mais de dois mil anos para tratamento de febre na China. A partir da década de 1970, a artemisina e seus derivados (arteméter e artesunato) foram estudados e desenvolvidos pelos cientistas chineses, inicialmente, para o tratamento da malária. A atividade esquistossomicida foi descrita, também pelos chineses, com base em animais experimentalmente infectados por *S. japonicum* (Le et al., 1982) e posteriormente por *S. mansoni* e *S. haematobium* (Araújo, Kohn & Katz, 1991; Xiao et al., 2002).

Ensaios clínicos já foram realizados em mais de três mil indivíduos, especialmente visando reduzir a incidência e intensidade da infecção em residentes de zonas endêmicas. De fato, Utzinger et al. (2000) ensaiaram o arteméter na Costa do Marfim, África, por via oral, na dose de 6 mg/kg, administrada a cada três semanas, por seis vezes. Antes, os escolares haviam sido tratados por duas vezes com praziquantel, com intervalos de quatro semanas. A avaliação final foi feita três semanas após o término do tratamento. Não foram relatados efeitos colaterais graves com o uso do arteméter. O grupo que recebeu o arteméter teve incidência de infecção por *S. mansoni* significativamente menor que a do grupo-controle de 128 tratados; 31 (24,2%) se infectaram, enquanto no outro grupo dos 140 pacientes, 68 (48,6%). Também a média geométrica do número de ovos de *S. mansoni* foi menor no grupo tratado com arteméter quando comparado ao de controle (19 e 32 ovos/grama de fezes). Resultados similares já haviam sido descritos antes em trabalhos realizados na República Popular da China, em área endêmica de *S. japonicum* (Xiao, Booth & Tanner, 2000).

Deve-se chamar a atenção para o potencial perigo do uso continuado e prolongado da artemisina e seus derivados em área endêmica para malária, pois teoricamente existe a possibilidade do aparecimento

de resistência a essas drogas, que atualmente são muito importantes para o tratamento dos indivíduos infectados por *Plasmodim falciparum*, especialmente devido ao rápido e eficaz efeito que apresentam nos casos de envolvimento cerebral causado por esse parasito. Embora exista a possibilidade do uso em população residente em zona endêmica para que esta não se infecte por *Schistosoma*, as formulações atuais da artemisina e/ou seus derivados não parecem ter indicação do ponto de vista prático, seja pela necessidade do tratamento repetido e constante nessas áreas, seja pela possibilidade do aparecimento de formas resistentes a essas drogas na malária. Todavia, é possível indicá-las para o tratamento de curto prazo de pessoas que obrigatoriamente têm que entrar em contato com águas contaminadas em zonas endêmicas, como o pessoal das Forças Armadas ou limpadores de canais de sistema de irrigação.

RESISTÊNCIA ÀS DROGAS ESQUISTOSSOMICIDAS

Foram Rogers & Bueding (1971) que pela primeira vez demonstraram a existência de uma cepa de *S. mansoni* resistente a um agente esquistossomicida. De fato, camundongos infectados com uma cepa de *S. mansoni* de Porto Rico foram tratados com hycanthone, por via intramuscular, e, nestes, foi vista parada temporária da eliminação de ovos nas fezes. Quando os ovos voltaram a ser encontrados nas fezes, 12 meses após o tratamento, estavam viáveis, dando origem a miracídios capazes de infectar caramujos. As cercárias provenientes destes foram utilizadas para infecção de camundongos, cujos vermes adultos mostraram estar resistentes ao tratamento com hycanthone (Rogers & Bueding 1971). Logo em seguida, Katz, Dias & Araújo (1973) isolaram, também pela primeira vez, cepas de *S. mansoni* provenientes de dois pacientes menores que haviam sido tratados por duas vezes com hycanthone e uma vez com niridazol e mesmo assim continuavam eliminando ovos viáveis nas fezes. Fechando o ciclo em laboratório, os camundongos infectados por essa cepa (WW) mostraram resistência ao tratamento com hycanthone e também com oxamniquine (Katz, Dias & Araújo, 1973). Vários estudos posteriores confirmaram a existência de cepas resistentes a esses agentes esquistossomicidas (Campos et al., 1973; Dias et al., 1978; Dias, Pedro & Debelardini, 1982; Coles et al., 1987; Araújo & Souza, 1991; Coelho, Lima e Silva & Nogueira-Machado, 1997; Conceição, Argento & Correa, 2000). Em 1991, Katz et al. trataram dois grupos de crianças: o primeiro constituído de noventa pacientes, com oxamniquine (dose única, oral, de 20 mg/kg; e o segundo, de 110 pacientes, com praziquantel (dose única oral, de 60 mg/kg). O percentual de cura foi semelhante em ambos os grupos (85%). Em seguida, os não curados com a droga utilizada receberam a outra medicação. No total, para o segundo tratamento, foram tratados 12 pacientes com oxamniquine ou com praziquantel. Destes, apenas um continuou eliminando ovos viáveis de *S. mansoni*. Esse ensaio mostrou que indivíduos não curados com oxamniquine foram curados com praziquantel e vice-versa. Destaque-se ainda que foram obtidos cinco isolados dessas crianças antes do primeiro tratamento. Não foi detectada correlação entre a resposta à droga utilizada nas crianças e as obtidas em animais de experimentação, permitindo a conclusão de que a falha terapêutica clínica nem sempre está associada à resistência da cepa de *S. mansoni* e que a resposta ao tratamento é droga específica (Katz et al., 1991).

Fallon & Doenhoff (1994) utilizaram um *pool* de cercárias provenientes de quatro isolados de *S. mansoni* oriundos de regiões geográficas diferentes. Após sete tratamentos com doses subcurativas de praziquantel, que foram sendo aumentadas a cada tratamento, obtiveram uma cepa da qual 93% dos vermes sobreviveram

a três doses de 300 mg/kg, enquanto apenas 10% dos vermes sobreviveram, no grupo-controle. Essa cepa demonstrou ser resistente ao praziquantel, mas sensível ao uso da oxamniquine, isto é, trata-se de cepa resistente a uma droga específica.

Os resultados dos exames coproparasitológicos realizados em populações residentes em Richard Toll (Senegal) após o tratamento com praziquantel (dose única, oral, de 40 mg/kg) revelaram uma baixa porcentagem de cura, de apenas 18% nos infectados por *S. mansoni* (Gryseels et al., 1994). A divulgação desses resultados causou grande comoção na opinião pública, bem como na comunidade científica, exigindo várias manifestações da OMS, temerosa de o praziquantel ser contestado como esquistossomicida na África.

Muitos estudos e ensaios clínicos foram realizados para explicar este mau resultado do praziquantel, discordante dos outros inúmeros ensaios realizados nas mais diferentes regiões geográficas em três continentes, que apresentaram boa eficácia terapêutica. Ensaio clínico utilizando-se duas doses de 30 mg/kg foi realizado em trinta crianças infectadas, com carga parasitária alta, que foram alocadas em diferentes grupos e tratadas com a dose usual e com a dose maior. Os resultados dos exames coprológicos e também da pesquisa de antígeno circulante não mostraram diferença significativa do percentual de cura entre os dois grupos (44% e 34%, seis semanas após o tratamento) (Gryseels et al., 1994; Stelma et al., 1995). É interessante destacar que foi observado (em ambos os grupos) um decréscimo de 99% na contagem de ovos de *S. mansoni* nas fezes. Outro estudo comparando praziquantel (40 mg/kg) com oxamniquine (20 mg/kg) foi realizado em 138 pacientes (5-75 anos de idade) provenientes do mesmo foco (Ndombo, Richard Toll). Seis semanas após o tratamento, o percentual de cura foi de 79% nos tratados com oxamniquine e de 36%, com praziquantel (Stelma et al., 1997). Várias hipóteses foram levantadas para explicar essa baixa atividade da droga nesse importante foco esquistossomótico: transmissão alta com reinfecções precoces, presença de vermes imaturos, resposta imune deficiente dos pacientes por se tratar de um foco recente, uso de droga com baixa qualidade e susceptibilidade baixa ou mesmo resistência de cepas na área (Gryseels et al., 2001).

Experimentalmente, foi demonstrado em camundongos tratados com praziquantel e infectados com isolados de Richard Toll que os animais apresentaram resposta terapêutica bem menor do que com a cepa de *S. mansoni* mantida rotineiramente no laboratório (Fallon et al., 1995). As diferentes partidas de praziquantel utilizadas nos ensaios clínicos mostraram-se igualmente eficazes nos ensaios experimentais em camundongos (Katz & Araújo, dados não publicados; Stelma et al., 1995). Gryseels et al. (2001) revisaram os vários estudos e ensaios clínicos realizados com praziquantel e discutiram em extensão as várias possibilidades, concluindo que o baixo índice de cura pode ser explicado pela alta carga parasitária e intensa transmissão na área e que não é possível afirmar se existe ou não resistência na cepa senegalense. Todavia, a metanálise realizada por Denso-Appiah & De Vlas (2002), com base em vários ensaios clínicos efetuados em diferentes países da África (Sudão, Burundi, Zaire, Egito e Senegal) mostrou que a alta intensidade da carga parasitária nos pacientes tratados, bem como a técnica utilizada no diagnóstico e avaliação podem explicar parcialmente o percentual baixo de cura, mas o que foi chamado de 'fator Senegal', isto é, a resistência ou tolerância da cepa de *S. mansoni* ao praziquantel, não pode ser excluído.

Ismail et al. (1996) relataram que no Egito, de 1988 a 1991, foram tratados com praziquantel mais de dez milhões de pessoas infectadas pela esquistossomose (Ismail et al., 1996). Em 1991, observaram no

Delta do Nilo que 2,3% dos infectados não haviam sido curados, embora houvessem sido tratados com três doses sucessivas de praziquantel (duas de 40 mg/kg e a terceira de 60 mg/kg). Quando os ovos de *S. mansoni* provenientes desses pacientes foram utilizados para fechar o ciclo, os camundongos infectados e tratados com praziquantel mostraram, 80% deles, uma baixa resposta à droga. Também *in vitro* a resposta estava diminuída, seja em relação à contração dos vermes (Ismail et al., 1999), seja quanto à ruptura do tegumento dos vermes (William et al., 2001), quando em contato com o praziquantel.

Observação muito interessante foi vista numa cepa resistente (R1), oriunda de um paciente que havia sido tratado com praziquantel e oxamniquine e que não havia sido curado (Coelho et al., 1998). Essa cepa (R1), comparada com a cepa LE (mantida rotineiramente no laboratório), apresentava a mesma susceptibilidade à oxamniquine (200 mg/kg, dose única oral, em camundongos), quando o tratamento foi feito na fase da infecção na pele (um dia) ou na fase pulmonar (seis dias). A resistência à droga manifestou-se no início da maturidade dos vermes (25 dias após a infecção) (Coelho et al., 1998). Também Pica-Mattoccia & Cioli (2004) observaram que, para o tratamento da infecção aos 28 dias, em camundongos infectados com a cepa de Porto Rico, foi necessária dose trinta vezes maior de praziquantel do que a usada para a infecção com 49 dias.

Três conclusões importantes podem ser tiradas dos estudos discutidos:

- é possível selecionar (ou induzir) cepas resistentes ao praziquantel e à oxamniquine em laboratório;
- existem cepas, em diferentes regiões endêmicas, que apresentam naturalmente diferente susceptibilidade (ou mesmo tolerância) aos agentes esquistossomicidas;
- tendo em vista a possibilidade teórica de encontro de cepas resistentes a oxamniquine e praziquantel (o que ainda não foi demonstrado em um mesmo isolado) e considerando que, para muitas regiões na África e em toda a Ásia, apenas o praziquantel tem sido usado (pois a oxamniquine não apresenta atividade contra *S. haematobium* ou *S. japonicum* ou mesmo *S. mansoni* em muitas regiões do continente africano), é necessário e urgente o encontro de novos agentes esquistossomicidas.

ASSOCIAÇÃO DE DROGAS

A associação de drogas para o tratamento da esquistossomose na clínica médica ou em programas de saúde pública tem como objetivos:

- uso de menor quantidade de cada uma, visando diminuir a freqüência dos efeitos adversos (e/ou tóxicos) e aumentar o índice de eficiência terapêutica;
- dificultar (ou impedir) o aparecimento de cepa resistente ao agente esquistossomicida;
- curar os pacientes que tenham concomitância de infecção crônica e reinfecção recente (vermes maduros e imaturos);
- obter, de preferência, ação sinérgica entre as drogas e não apenas ação aditiva.
- A associação de drogas tem seguido dois caminhos:
    - uso de duas drogas esquistossomicidas (exemplo: praziquantel e oxamniquine, praziquantel e arteméter);
    - uso de um agente esquistossomicida associado a uma droga que tenha atividade sobre o metabolismo da primeira (por exemplo: praziquantel e cimetidina).

Não se devem esquecer as incompatibilidades farmacológicas entre drogas, que podem interferir na ação isolada de cada uma (por exemplo: praziquantel e corticoesteróides).

Serão discutidos aqui os ensaios clínicos, especialmente os resultados obtidos no uso da associação da oxamniquine e do praziquantel e da oxamniquine com arteméter.

Em 1983, Pugh & Teesdale ensaiaram a combinação praziquantel (de 8 a 20 mg/kg) e oxamniquine (4 a 10 mg/kg) em escolares de seis a vinte anos, no Malaui. Estes estavam infectados com *S. mansoni* e/ ou *S. haematobium*. Mesmo com as doses maiores, os efeitos colaterais foram poucos, mostrando ser essa associação bem tolerada. Os autores concluíram que houve ação sinérgica entre as duas drogas (Pugh & Teesdale, 1983). Todavia, na análise dos resultados foram levantadas algumas objeções, tais como: os grupos de escolares tratados eram constituídos por número pequeno de casos (22 a trinta por grupo); metade dos pacientes apresentava infecção mista; só foi considerada a redução do número de ovos, não sendo mencionado o percentual de cura; a intensidade da infecção era alta antes do tratamento; e apenas um único exame de fezes ou urina foi realizado, um mês após o tratamento (Utzinger et al., 2003). Outro ensaio clínico utilizando-se da associação de praziquantel (20 mg/kg) e oxamniquine (4 a 10 mg/kg) foi realizado no Zimbábue, em crianças de sete a 16 anos infectadas com *S. mansoni* e/ou *S. haematobium*. Os autores concluíram que essa associação não foi superior ao uso do praziquantel sozinho (Creasey, Taylor & Thomas, 1986).

No Brasil, os ensaios clínicos realizados apresentaram resultados contraditórios. De fato, Campos et al. (1985), utilizando a associação praziquantel (15 mg/kg/oral) e oxamniquine (7,5 mg/kg/oral) obtiveram evidências de que essa associação fosse vantajosa. O mesmo não foi confirmado por outros pesquisadores, em ensaios no Brasil, que concluíram pela falta de ação sinérgica de tal associação (Dietze & Prata, 1986; Zwingenberger et al., 1987; Grysche, Carvalho & Amato Neto, 2004).

Recentemente, foram realizados dois ensaios na África. O primeiro ocorreu no Senegal, em uma área onde a transmissão de *S. mansoni* é muito intensa (Richard Toll) e que já foi citada neste capítulo, no que diz respeito à resistência ao praziquantel. O ensaio clínico incluiu 110 pacientes infectados com *S. mansoni*, com idade de um a sessenta anos. Os pacientes foram divididos em três grupos e tratados com praziquantel (40 mg/kg, dose única) e artesunato (dose total de 12 mg/kg, distribuída em cinco dias). A avaliação de cura foi feita com uso de duas lâminas de uma mesma amostra fecal, pelo método de Kato-Katz (Katz, Chaves & Pellegrino, 1972), nas semanas cinco, 12 e 24. O índice de cura na primeira avaliação foi de respectivamente 69% e 44%, para a associação ou praziquantel isoladamente. Já a redução de número de ovos de *S. mansoni* nas fezes foi semelhante nos dois grupos tratados (em torno de 86%) (De Clercq et al., 2000).

O segundo ensaio clínico foi realizado no Gabão (África) em 296 crianças infectadas por *S. haematobium* e tratadas com praziquantel mais placebo ou praziquantel e artesunato nas mesmas doses do primeiro ensaio antes relatado. Os percentuais de cura observados não foram significativamente diferentes, sendo respectivamente de 73% e 81% (Borrmann et al., 2001). A associação do praziquantel com os derivados da artemisina vem sendo estudada com mais freqüência na China (Xiao et al., 2002; Utzinger et al., 2000, 2003; Xiao, Booth & Tanner, 2000).

Os resultados, embora não muito animadores, indicam a necessidade de novos ensaios com outras posologias com essa associação, evitando-se, todavia, fazê-lo em áreas endêmicas, onde coexistam a malária e a esquistossomose.

A segunda abordagem que pode ser sugerida é a administração de praziquantel e cimetidina. Os ensaios clínicos realizados em portadores de neurocisticercose, que proporcionaram a transição de esquemas terapêuticos de longa duração para tratamentos com duração de um único dia, quando ao praziquantel foi acrescentada a cimetidina, indicam um bom modelo a ser experimentado nos casos de esquistossomose. O aumento da biodisponibilidade e da concentração do praziquantel no plasma em até duas vezes e meia, quando essa associação foi utilizada, permite que se tenha perspectiva de alcançar bons resultados na terapêutica clínica. Também outras drogas podem ser associadas com o mesmo desiderato, uma vez que, por exemplo, a administração simultânea de miconazol e praziquantel em estudos experimentais em ratos mostrou aumento de até cinco vezes na concentração plasmática do praziquantel (Diekmann, Schneidereit & Overbosch, 1989).

TRATAMENTO COMO MEDIDA DE CONTROLE

Trabalho pioneiro, na década de 1950, foi realizado por Sette (1953) quando, examinando a população de uma região endêmica de esquistossomose, em Pernambuco, que havia sido tratada com antimoniais, demonstrou diminuição significativa do número de casos de cirrose hepática após o tratamento de milhares de pacientes com esquistossomose. Esse achado levou Kloetzel (1970) a estudar em área endêmica semelhante o resultado do tratamento especifico na evolução das formas graves em crianças e a sugerir, como conclusão do observado, que estas deveriam ser tratadas independentemente da possibilidade de serem reinfectadas (Kloetzel, 1962, 1967). Em trabalho posterior e decisivo, realizado na Bahia por Bina (1977), os resultados demonstraram claramente que as crianças residentes em zona endêmica de *S. mansoni* tinham tendência a adquirir a forma hepatoesplênica com o passar dos anos. De fato, no grupo examinado (controle) havia onze portadores de forma hepatoesplênica e após seis anos foram encontrados 33 casos. Em um segundo grupo examinado na área, havia 14 crianças com forma hepatoesplênica em um grupo de crianças infectadas, que foram tratadas com hycanthone. Após seis anos, quatro crianças apresentaram redução do tamanho do fígado e do baço, passando a ser consideradas portadoras de forma intestinal ou hepatointestinal, e nenhum novo caso de forma hepatoesplênica foi encontrado no grupo tratado, embora praticamente todos estivessem novamente eliminando ovos de *S. mansoni* nas fezes devido a reinfecções (Bina, 1977).

Esses trabalhos, entre outros realizados no Brasil (Katz, Zicker & Pereira, 1977; Coura et al., 1980; Prata et al., 1980), foram decisivos para que a OMS, em 1985, após reunião de 'peritos' na área da esquistossomose, em que havia três pesquisadores brasileiros e a coordenação de um pesquisador americano que também havia residido e pesquisado esquistossomose no Brasil (especificamente na Bahia) durante muitos anos, passasse a indicar o controle da morbidade por tratamento específico dos portadores de esquistossomose em zonas endêmicas (WHO, 1985). Com o aparecimento de drogas esquistossomicidas que podiam ser administradas em dose única oral, com atividade terapêutica boa e com efeitos adversos e tóxicos de baixa intensidade, foi possível iniciar em várias áreas endêmicas projetos-piloto que visavam ao controle da morbidade (medido pela diminuição da incidência ou pelo não aparecimento das formas graves, isto é, das formas hepatoesplênicas). Estes projetos-piloto realizados em diferentes estados brasileiros mostraram claramente que o uso da droga (mesmo que isoladamente) permitia uma baixa rápida do número de ocorrências e da intensidade da infecção na população tratada (embora em caso de

interrupção do tratamento a tendência fosse de a incidência e a intensidade voltarem aos índices anteriores). O mais importante, porém, é que, embora houvesse reinfecções, não havia aparecimento de novos casos da forma hepatoesplênica (Katz, 1992). Com a introdução do Pece, no Brasil, em 1976, foram examinados e tratados com oxamniquine milhões de brasileiros. Embora haja discussão e discordância do que esse Programa produziu em relação à prevalência no país, parece unânime a conclusão de que houve uma significativa baixa da incidência e da prevalência das formas hepatoesplênicas entre os registros de casos de esquistossomose no Brasil (Coura et al., 1983; Lima & Costa et al., 1996; Carmo & Barreto, 1994; Favre et al., 2001).

Em relação a outras manifestações mórbidas causadas pela esquistossomose, como: renal, genital, cutânea, cerebral, medular etc., faltam avaliações do efeito dos agentes esquistossomicidas na sua incidência e evolução dessas outras formas, quando populações são tratadas. Estudos realizados em diferentes países têm também mostrado os benefícios causados pelo tratamento das populações residentes em zonas endêmicas: baixa da intensidade e da prevalência foi notada em países da África, além de resolução da anemia e interrupção da eliminação de sangue nas fezes, reversão do aumento do volume do fígado e baço e reversão da fibrose hepática (El Sayed et al., 1997; Boisier et al., 1998; Domingues & Coutinho, 1990; Sukwa, 1993; Mohamed et al., 1991; Homeida et al., 1991). A esse respeito, vale ler revisão sobre o impacto da quimioterapia sobre a morbidade causada pelas esquistossomoses em diferentes áreas geográficas (Richter, 2003).

PERSPECTIVAS

Não é conveniente que haja apenas uma droga para o tratamento de uma doença endêmica como a esquistossomose. De fato, considerando o uso da oxamniquine, cada vez menor quando comparado com o do praziquantel, este último passará a ser brevemente o único utilizado. Aliás, isso já vem acontecendo na África e na Ásia, pelos motivos anteriormente discutidos. Assim, é urgente que novos esforços sejam feitos para descobrimento de novos agentes esquistossomicidas, especialmente nos países endêmicos para a esquistossomose. Nesse caso o Brasil destaca-se, seja por ter massa crítica de pesquisadores dedicados ao assunto, ou mesmo pela aplicação de soma de recursos apreciáveis nas investigações (embora, no total, esse montante ainda seja inferior às necessidades). Os pesquisadores brasileiros, junto com órgãos internacionais, a OMS em primeiro lugar, mas também associados a indústrias farmacêuticas que contam com *expertise* e fazem síntese de moléculas novas e mesmo modificação de algumas já estudadas, poderiam em conjunto proporcionar o aparecimento de novos agentes esquistossomicidas. É claro que não se pode esperar que a indústria farmacêutica, isoladamente, vá investir a soma de oitocentos milhões de dólares americanos para o descobrimento de um novo agente – essa solução não é prática nem realista, tampouco viável.

O esquema de cooperação aqui proposto talvez possa custar um décimo dessa verba orçada empiricamente, mas citada como argumento para que não haja ensaios experimentais e clínicos com um novo esquistossomicida. Por outro lado, o reconhecido efeito benéfico do tratamento específico da esquistossomose indica que seu uso deva ser continuado e ampliado nos países endêmicos, mesmo sabendo que apenas o controle da morbidade poderá ser alcançado com essa medida, isoladamente. Aliás, a OMS, na sua Resolução WHA 5.419, de maio de 2001, recomendou aos estados-membros que

garantissem o acesso às drogas essenciais contra a esquistossomose (e geoelmintos) nos serviços de saúde instalados em zonas endêmicas. O objetivo é de tratar especificamente pelo menos 75% das crianças em idade escolar, regularmente, até o ano de 2010 (OMS, 2005).

Todos os esforços dos pesquisadores, dos formadores de opinião pública e dos agentes do governo deverão ser canalizados no sentido de convencer as autoridades responsáveis da necessidade imediata do aumento de investimentos no fornecimento de água potável e sistema de esgoto, tecnicamente corretos, para as cidades e aglomerados humanos, onde, associados a medidas de educação para a saúde e tratamento clínico em larga escala, poderão ser a resposta adequada para o controle da transmissão da endemia esquistossomótica, bem como de várias outras doenças relacionadas à precariedade do saneamento básico.

É importante para o Brasil, onde há quase cem anos foram descritos os primeiros casos de esquistossomose, que não seja necessário esperar mais um século para se considerar a esquistossomose uma endemia controlada.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, Z. A.; SANTOS, H. A. & GRIMAUD, J. A. The liver after oxamniquine treatment of schistosomiasis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 22, supl. 4: 37-40, 1980.

ANDRADE, Z. A. et al. Lesões hepáticas produzidas por hycanthone. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 16: 160-170, 1974.

ARAÚJO, N. & SOUZA, C. P. Efeito do Eugenol e derivados sobre *Biomphalaria glabrata*. *Revista Brasileira de Biologia*, 51: 295-299, 1991.

ARAÚJO, N.; KOHN, A. & KATZ, N. Activity of the arteméter in experimental schistosomiasis mansoni. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 86, supl. 2: 185-188, 1991.

ARCHER, S. & YARINSKY, A. Recent developments in the chemotherapy of schistosomiasis. In: JUCKER, E. (Ed.) *Progress in Drug Research*. Basel: Birhäuser Verlag, 1972.

BASSILY, S. et al. Praziquantel for treatment of schistosomiasis in patients with advanced splenomegaly. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 79: 629-634, 1985.

BEKHTI, A. & PIROTI, J. Cimetidine increases serum mebendazole concentrations. Implications for treatment of hepatic hydatid cysts. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 24: 390-392, 1987.

BINA, J. C. *Influência da Terapêutica Específica na Evolução da Esquistossomose Mansônica*, 1977. Tese de Doutorado, Salvador: Universidade Federal da Bahia.

BINA, J. C. & SPINOLA, A. Convulsão associada ao uso de oxamniquine. Relato de um caso. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 10: 221-223, 1976.

BITTENCOURT, P. R. M.; GARCIA, C. M. & MARTINS, R. Phenytoin and carbamezine decrease oral bioavailability of praziquantel. *Neurology*, 42: 493-499, 1982.

BOISIER, P. et al. Reversibility of *Schistosoma mansoni*-associated morbidity after yearly mass praziquantel therapy: ultrasonographic assessment. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 92: 451-453, 1998.

BORRMANN, S. et al. Artesunate and praziquantel for the treatment of *Schistosoma haematobium* infections: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *The Journal of Infectious Diseases*, 184: 1.363-1.366, 2001.

BROSEN, K. Recent developments in hepatic drug oxidation. Implications for clinical pharmacokinetics. *Clinical Pharmacokinetics*, 18: 220-239, 1990.

CAMARGO, S. O papel do tratamento específico no Programa Especial contra Esquistossomose. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 22, supl. 4: 217-224, 1980.

CAMPOS, R. et al. Hycanthone resistance in a humam strain of *Schistosoma mansoni*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 70: 261-262, 1973.

CAMPOS, R. et al. A associação de oxamnquine e praziquantel no tratamento da esquistossomose mansônica. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 21, 1985, São Paulo, Resumo 21-042. *Anais...* São Paulo, 1985.

CARMO, E. H. & BARRETO, M. L. Esquistossomose mansônica no Estado da Bahia: tendências históricas e medidas de controle. *Cadernos de Saúde Pública*, 10: 425-439, 1994.

CHRISTOPHERSON, J. B. The successful use of antimony in bilharziosis. Admnestered as intravenous injections of antimonium tartaratum (tartar emetic). *The Lancet,* II: 325-327, 1918.

CIOLI, D.; PICA-MATTOCCIA, L. & ARCHER, S. Antischistosomal drugs: past, present and future? *Pharmacology & Therapeutics*, 68: 35-85, 1995.

COELHO, P. M.; LIMA E SILVA, F. C. & NOGUEIRA-MACHADO, J. A. Resistance to oxamniquine of a *Schistosoma mansoni* strain isolated from patient s0ubmitted to repeated treatments. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 39: 101-106, 1997.

COELHO, P. M. Z. et al. Activity of oxamniquine at skin, pulmonary and sexual maturation phases, on a *Schistosoma mansoni* strain (R1) previously reported as resistant at the adult phase. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93: 267-268, 1998.

COLES, G. C. et al. Tolerance of Kenyan *Schistosoma mansoni* to oxamniquine. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 81: 782-785, 1987.

CONCEIÇÃO, M. J.; ARGENTO, C. A. & CORREA, A. Study of *Schistosoma mansoni* isolates from patients with failure of treatment with oxamniquine. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95: 375-380, 2000.

CORONA, T. et al. Single-day praziquantel therapy for neurocysticercosis. *The New England Journal of Medicine*, 334: 124, 1996.

COURA, J. R. et al. Experiências de campo com oxamniquine oral no tratamento da esquistossomose mansônica. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 22, supl. 4: 195-202, 1980.

COURA, J. R. et al. Morbidade da esquistossomose no Brasil. II Estudo em quatro áreas de campo nos essados de Minas Gerais, Sergipe e Paraíba. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 78: 1-11, 1983.

COUTINHO, A. & DOMINGUEZ, A. L. C. Evaluation of the treatment of severe forms of schistosomiasis mansoni with oxamniquine. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 22: supl. 4: 41-51, 1980.

COUTINHO, A. et al. Treatment of hepatosplenic schistosomiasis mansoni with praziquantel. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 26: 38-50, 1988.

COUTINHO, A. D. et al. Tratamento da esquistossomose hépato-esplênica com praziquantel. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 26: 38-50, 1984.

CREASEY, A. M.; TAYLOR, P. & THOMAS, J. E. P. Dosage trial of a combination of oxamniquine and praziquantel in the treatment of schistosomiasis in Zimbabwean schoolchildren. *The Central African Journal of Medicine*, 32: 165-167, 1986.

CUNHA, A. S.; CANÇADO, J. R. & REZENDE, G. L. Therapeutical evaluation of different dose regimens of praziquantel in schistosomiasis mansoni, based on the quantitative oogram technique. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 29: 295-304, 1987.

DANSO-APPIAH, A. & DE VLAS, S. J. Interpreting low praziquantel cure rates of *Schistosoma mansoni* infections in Senegal. *Trends in Parasitology*, 18: 125-129, 2002.

DAVIS, A. Antischistosomal drugs and clinical practice. In: JORDAN, P. & WEBBE, G. (Eds.) *Human Schistosomiasis*: *epidemiology, treatment and control*. Londres: Heineman Medical Books, 1993.

DAVIS, A. & WEGNER, D. H. Multicentre trials of praziquantel in human schistosomiasis: design and techniques. *Bulletin of the World Health Organization*, 57: 767-771, 1979.

DAYAN, A. D. Albendazole, mebendazole and praziquantel. Review of non-clinical toxicity and pharmacokinetics. *Acta Tropica*, 86: 141-159, 2003.

DE CLERCQ, D. et al. What is the effect of combining artesunate and praziquantel in the treatment of *Schistosoma mansoni* infections? *Tropical Medicine & International Health*, 5: 744-746, 2000.

DIAS, C. B. *Quimioterapia Antimonial na Esquistossomose Mansônica*, 1949. Tese de Doutorado, Belo Horizonte: Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais.

DIAS, L. C. S.; PEDRO, R. J. & DEBELARDINI, E. R. Use of praziquantel in patients with schistosomiasis mansoni previously treated with oxamniquine and hycanthone: resistance of *Schistosoma mansoni* to schistosomicidal agents. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 76: 652-659, 1982.

DIAS, L. C. S. et al. A human strain of *Schistosoma mansoni* resistant to schistosomicides. *Revista de Saúde Pública*, 12: 110, 1978.

DIEKMANN, H. W.; SCHNEIDEREIT, M. & OVERBOSCH, D. Inhibitory effects of cimetidine, ketoconazole and miconazole on the metabolism of praziquantel. *Acta Leiden*, 57: 217-228, 1989.

DIETZE, R. & PRATA, A. Baixa eficácia da associação oxamniquine e praziquantel na cura da esquistossomose mansônica. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 19: 247-249, 1986.

DOLLERY, C. T. Praziquantel. In: DOLLERY, C. *Therapeutic Drugs*. 2. ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1999. v. 2

DOMINGUES, A. L. & COUTINHO, A. Tratamento da esquistossomose mansônica com oxaminquine oral. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 17: 164-180, 1975.

DOMINGUES, A. L. C. & COUTINHO, A. D. Reduction of morbidity in hepatosplenic schistosomiasis mansoni after treatment with praziquantel: a long term study. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 23: 101-107, 1990.

EBEID, F. A. et al. Treatment of experimental schistosomiasis mansoni with praziquantel alone and combined with cimetidine. *Arzneimittel – Forschung*, 44: 1.268-1.270, 1994.

EL SAYED, M. K. et al. The impact of passive chemotherapy on *Schistosoma mansoni* prevalence and intensity of infection in the Egyptian Nile Delta. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 57: 266-271, 1997.

FALLON, P. G. & DOENHOFF, M. J. Drug-resistant schistosomiasis: resistance to praziquantel and oxamniquine induced in *Schistosoma mansoni* in mice is drug specific. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 51: 83-88, 1994.

FALLON, P. G. et al. Short report: diminished susceptibility to praziquantel in a Senegal isolate of *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 53: 61-62, 1995.

FARID, Z. et al. The diagnosis and treatment of acute toxaemic schistosomiasis in children. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 81: 959, 1987.

FARLEY, J. *Bilharzia: a history of imperial tropical medicine*. Cambridge: Cambridge University Press, 1991.

FAVRE, T. C. et al. Avaliação das ações de controle da esquistossomose implementadas entre 1977 e 1996 na área endêmica de Pernambuco, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 34: 596-576, 2001.

FENWICK, A. et al. Drugs for the control of parasitic diseases: current status and development in schistosomiasis. *Trends in Parasitology*, 19: 509-515, 2003.

FERRARI, M. L. A. et al. Efficacy of oxamniquine and praziquantel in the treatment of *Schistosoma mansoni* infection: a controlled trial. *Bulletin of the World Health Organization*, 81: 190-196, 2003.

FOSTER, R. The preclinical development of oxamniquine. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 15, supl. 1: 1-9, 1973.

FOSTER, R. A review of clinical experience with oxamniquine. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 81: 55-59, 1987.

GROLL, E. Praziquantel. *Advances in Pharmacology and Chemotherapy*, 20: 219-238, 1984.

GRYSCHE, R. C. B.; CARVALHO, A. S. & AMATO NETO, V. Tratamento da esquistossomose mansônica com praziquantel em duas doses únicas diárias consecutivas. *Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica*, 2: 100-102, 2004.

GRYSEELS, B. et al. Epidemiology, immunology and chemotherapy of *Schistosoma mansoni* infections in a recently exposed community in Senegal. *Tropical and Geographical Medicine*, 46: 209-219, 1994.

GRYSEELS, B. et al. Are poor responses to praziquantel for the treatment of *Schistosoma mansoni* infections in Senegal due to resistance? An overview of the evidence. *Tropical Medicine & International Health*, 6: 864-873, 2001.

HOMEIDA, M. A. et al. Association of the therapeutic activity of praziquantel with the reversal of Symmers' fibrosis induced by *Schistosoma mansoni*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 45: 360-365, 1991.

ISHIZAKI, T.; KAMO, E. & BOEHME, K. Double-blind studies on tolerance to praziquantel in Japanese patients with *Schistosoma japonicum* infections. *Bulletin of the World Health Organization*, 57: 787-791, 1979.

ISMAIL, M. et al. Characterization of isolates of *Schistosoma mansoni* from Egyptian villagers that tolerate high doses of praziquantel. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 55: 214-218, 1996.

ISMAIL, M. et al. Resistance to praziquantel: direct evidence from *Schistosoma mansoni* isolated from Egyptian villagers. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 60: 932-935, 1999.

KATZ, N. Chemotherapy of schistosomiasis mansoni. *Advances in Pharmacology and Chemotherapy*, 14: 1-70, 1977.

KATZ, N. Resultados atuais na terapêutica clínica da esquistossomose mansônica. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 22, supl. 4: 123-133, 1980.

KATZ, N. Brazilian contributions to epidemiological aspects of schistosomiasis mansoni. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87, supl. 4: 1-9, 1992.

KATZ, N. & PELLEGRINO, J. Experimental chemotherapy of schistosomiasis mansoni. *Advances in Parasitology*, 12: 369-390, 1974.

KATZ, N.; CHAVES, A. & PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in schistosomiasis mansoni. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 14: 397-402, 1972.

KATZ, N.; DIAS, E. P. & ARAÚJO, N. Estudo de uma cepa humana de *Schistosoma mansoni* resistente a agentes esquistossomicidas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 7: 381-387, 1973.

KATZ, N.; ROCHA, R. S. & CHAVES, A. Preliminary trials with praziquantel in human infections due to *Schistosoma mansoni*. *Bulletin of the World Health Organization*, 57: 781-785, 1979.

KATZ, N.; ROCHA, R. S. & PEREIRA, J. P. Controle da esquistossomose em Peri-Peri (Minas Gerais) através de repetidos tratamentos clínicos e aplicações de molucicidas. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 22, supl. 4: 203-211, 1980.

KATZ, N.; ZICKER, F. & PEREIRA, J. P. Field trials with oxamniquine in schistosomiasis mansoni endemic areas. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 26: 234-237, 1977.

KATZ, N. et al. Preliminary clinical trials with oxamniquine, a new antischistosomal agent. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 15: 25-29, 1973a.

KATZ, N. et al. Further clinical trials with oxamniquine, a new antischistosomal agent. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 15, supl. 1: 41-46, 1973b.

KATZ, N. et al. Clinical trials with oxamniquine, by oral route, in schistosomiasis mansoni. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 18: 371-377, 1976.

KATZ, N. et al. Ensaios clínicos com oxamninquine e praziquantel na fase aguda da esquistossomose mansônica. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 16, 1980, Natal, Resumo 165. *Anais...* Natal, 1980.

KATZ, N. et al. Efficacy of alternating therapy with oxamniquine and praziquantel to treat *Schistosoma mansoni* in children following failure of first treatment. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 44: 509-512, 1991.

KIKUTH, W. & GÖNNERT, R. Experimental studies on the therapy of schistosomiaisis. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 42: 256-267, 1948.

KLOETZEL, K. *Aspectos Epidemiológicos da Esquistossomose Mansônica em uma População de Pernambuco*, 1962. Tese de Doutorado, São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.

KLOETZEL, K. A rationale for the treatment of schistosomiasis mansoni, even when reinfection is expected. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 61: 609-610, 1967.

KRAMERS, P. G. N. et al. (International Commission for Protection against Environmental Mutagens and Carcinogens). Review of the genotoxicity and carcinogenicity of antischistosomal drugs: is there a case for a study of mutation epidemiology? Report of a task group on mutagenic antischistosomals. *Mutation Research*, 257: 49-89, 1991.

LAMBERTUCCI, J. R. Acute schistosomiasis: clinical diagnostic and therapeutic features. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 35: 399, 1993.

LE, W. J. et al. Studies on the efficacy of arteméter in experimental schistosomiasis. *Acta Pharmaceut*, 17: 187-193, 1982.

LEOPOLD, G. et al. Clinical pharmacology in normal volunteers of praziquantel, a new drug against schistosomes and cestodes. An example of a complex study covering both tolerance and pharmacokinetics. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 14: 281-291, 1978.

LIMA E COSTA, M. F. et al. Avaliação do Programa de controle da esquistossomose (PCE/PCDEN) em municípios situados na Bacia do Rio São Francisco, Minas Gerais, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 29: 117-126, 1996.

LÓPES-GOMES, M. et al. Optimization of the single-day praziquantel therapy for neurocysticercosis. *Neurology*, 57: 1.929-1.930, 2001.

MANDOUR, M. L. M. et al. Pharmacokinetics of praziquantel in healthy volunteers and patients with schistosomiasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 84: 389-393, 1990.

MASIMIREMBWA, C. M. & HASLER, J. A. Characterisation of praziquantel metabolism of chloroquine on the pharmacokinetics of praziquantel in rats and humans. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, 15: 33-43, 1994.

METWALLY, A. et al. Effect of cimetidine, bicarbonate and glucose on the bioavailability of different formulations of praziquantel. *Arzneimittel – Forschung*, 45: 516-518, 1995.

MOHAMED, A. R. et al. Ultrassonographical investigation of periportal fibrosis in children with *Schistosoma mansoni* infection: reversibility of morbidity seven months afther treatment with praziquantel. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 44: 444-451, 1991.

OLDS, G. R. Administration of praziquantel to pregnant and lactating women. *Acta Tropica*, 86: 185-195, 2003.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). *Site*, 2005. Disponível em: http:// www.who.int/wormcontrol, 2005.

OVERBOSCH, D. Neurocysticercosis. An introduction with special emphasis on new developments in pharmacotherapy. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*, 122: 893-898, 1992.

PEDRO, R. J. et al. Observations of the treatment of mansoni schistosomiasis with oxamniquine: efficacy in children and in persistent salmonellosis; resistance of a strain of *Schistosoma mansoni*; hepatic toxicity and neurological side effects. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 22, supl. 4: 32-36, 1980.

PEDROSO, E. R. P. Esquistossomose pulmonar crônica. IV Alteração pulmonar pós-tratamento com oxamniquine. In: CONGRESSO SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 14, João Pessoa. Resumo dos temas livres. *Anais...*, João Pessoa, 1978.

PICA-MATTOCCIA, L. & CIOLI, D. Sex- and stage-related sensitivity of *Schistosoma mansoni* to *in vivo* and *in vitro* praziquantel treatment. *International Journal for Parasitology*, 34: 527-533, 2004.

PRATA, A. et al. Ensaio de controle da transmissão da esquistossomose pela oxamniquine, em uma localidade hiperendêmica. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 22, supl. 4: 182-189, 1980.

PROGRAMA ESPECIAL DE CONTROLE DA ESQUISTOSSOMOSE NO BRASIL (PECE). Publicação do Conselho de Desenvolvimento Nacional, Brasília, 1976.

PUGH, R. N. & TEESDALE, C. H. Synergy of concurrent low dose oxamniquine and praziquantel in schistosomiasis. *British Medical Journal*, 287: 877-878, 1983.

REZENDE, G. L. Survey on the clinical trial results achieved in Brazil comparing praziquantel and oxamniquine in the treatment of mansoni schistosomiasis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 27: 328-336, 1985.

RICHTER, J. The impact of chemotherapy on morbidity due to schistosomiasis. *Acta Tropica*, 86: 161-183, 2003.

ROGERS, S. H. & BUEDING, E. Hycanthone resistance: development in *Schistosoma mansoni. Science*, 172: 1.057-1.058, 1971.

SANTOS, A. T. et al. Preliminary clinical trials with praziquantel in *Schistosoma japonicum* infections in the Philippines. *Bulletin of the World Health Organization*, 57: 793-799, 1979.

SCRIMGEOUR, E. M. & GAJDUSEK, D. C. Involvement of the central nervous system in *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium* infection. *Brain*, 108: 1.023-1.038, 1985.

SETTE, H. *O Tratamento da Esquistossomose à Luz da Patologia Hepática (Estudo Clínico)*, 1953. Dissertação de Mestrado, Recife: Universidade Federal de Pernanbuco.

SILVA, L. C. *Anticorpos e Eosinófilos Circulantes na Esquistossomose Mansônica: contribuição ao estudo de efeitos da quimioterapia*, 1974. Tese de Livre Docência: Universidade de São Paulo.

SILVA, L. C. et al. Clinical trials with oral oxamniquine (UK 4271) for the treatment of mansoni schistosomiasis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 16: 103-109, 1974.

SILVA, L. C. et al. Alterações pulmonares e renais após administração da oxamniquine em dois pacientes com esquistossomose hepatoesplênica. In: CONGRESSO SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 14, João Pessoa. Resumo dos temas livres. *Anais...* João Pessoa, 1978.

STEINER, K. et al. The fate of praziquantel in the organism. I Pharmacokinetics in animals. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 1: 85-95, 1976.

STELMA, F. F. et al. Efficacy and side effects of praziquantel in an epidemic focus of *Schistosoma mansoni. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 53: 167-170, 1995.

STELMA, F. F. et al. Oxamniquine cures *Schistosoma mansoni* infection in a focus in which cure rates with praziquantel are unusually low. *The Journal of Infectious Diseases*, 176: 304-307, 1997.

SUKWA, T. Y. A community-based randomized trial of praziquantel to control schistosomiasis morbidity in school-children in Zambia. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 87: 185-194, 1993.

UTZINGER, J. et al. Oral arteméter for prevention of *Schistosoma mansoni* infection: randomised controlled trial. *The Lancet*, 355: 1.320-1.325, 2000.

UTZINGER, J. et al. Combination chemotherapy of schistosomiasis in laboratory studies and clinical trials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47: 1.487-1.495, 2003.

VÁSQUEZ, V.; JUNG, H. & SOTELO, J. Plasma levels of praziquantel decrease when dexamethasone is given simultaneously. *Neurology*, 37: 1.561-1.562, 1987.

WATT, G. et al. Praziquantel in treatment of cerebral schistosomiasis. *The Lancet*, II: 529-532, 1986.

WERBEL, L. M. Chemotherapy of schistosomiasis. *Journal of Medicine Chemistry*, 3: 125-129, 1970.

WILLIAM, S. et al. Praziquantel-induced tegumental damage *in vitro* is diminished in schistosomes derived from praziquantel-resistant infections. *Parasitology*, 122: 63-66, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Schistosomiasis Control*. Geneva: WHO, 1985. (Technical Report Series, 728)

XIAO, S. H.; BOOTH, M. & TANNER, M. The prophylactic effects of arteméter against *Schistosoma japonicum* infections. *Parasitology Today*, 16: 122-126, 2000.

XIAO, S. H. et al. Recent investigations of arteméter, a novel agent for the prevention of schistosomiasis japonica, mansoni and haematobia. *Acta Tropica*, 82: 175-181, 2002.

ZWINGENBERGER, K. et al. Efficacy of oxamniquine, praziquantel and a combination of both drugs in schistosomiasis mansoni in Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 29: 305-311, 1987.

30 Tratamento Cirúrgico da Esquistossomose Mansoni

Álvaro Antônio Bandeira Ferraz
Edmundo Machado Ferraz

Varizes esofagianas.

Apesar de se verificar uma redução significativa no número de casos de esquistossomose mansoni, assim como uma redução na taxa de mortalidade, no Brasil, nas últimas duas décadas, tal endemia continua representando um problema de saúde pública. Formas graves da esquistossomose mansoni continuam a colocar em risco a vida dos pacientes. Cerca de 5%-8% dos pacientes esquistossomóticos poderão desenvolver a forma hepatoesplênica, e quando isso ocorrer cerca de 87,5% dos pacientes irão apresentar varizes esofagianas. A incidência de hemorragia digestiva em pacientes portadores da forma hepatoesplênica varia entre 11%-25%.

Neste capítulo serão abordados os principais aspectos do tratamento cirúrgico da esquistossomose mansoni.

FISIOPATOLOGIA

A diversidade e principalmente a capacidade de determinar formas clínicas graves, com considerável mortalidade, conferem à esquistossomose uma importância fundamental (Funasa, 2008).

A forma hepatoesplênica constitui a manifestação clínica mais freqüente da esquistossomose (Domingues & Domingues, 1994). Caracteriza-se pelo comprometimento do fígado e do baço, resultando na hipertensão do sistema portal. Prata & Bina (1968) observaram que seriam necessários de 5-15 anos para a instalação da forma hepatoesplênica após ter sido contraída a infecção.

O número de internamentos hospitalares para tratamento da esquistossomose e suas complicações também foi reduzido drasticamente, de 3/10.000 em 1989 para 1,5/10.000 em 1995 (El-Garem, 1998; Kloetzel & Schulster, 1987; Menezes Neto, 1987; Katz, 1998). Apesar de se verificar uma redução de cerca de 50% no número de casos de esquistossomose mansoni no Brasil, nas últimas duas décadas, assim como uma redução na taxa de mortalidade pela doença, esta continua representando um sério problema de saúde pública para o país (Andrade, 1998; Silveira, Silveira & Kelner, 1997; Ferraz et al., 2003a).

Formas graves da esquistossomose mansoni continuam a colocar em risco a vida dos pacientes. Cerca de 5%-8% dos pacientes esquistossomóticos poderão desenvolver a forma hepatoesplênica e, quando a desenvolverem, cerca de 87,5% dos pacientes irão apresentar varizes esofagianas (Andrade, 1998; Ferraz et al., 2001a). A incidência de hemorragia digestiva em pacientes portadores da forma hepatoesplênica varia entre 11%-25% (Ferraz et al., 2001a; Cury, 1995; Coura et al., 1982; Kloetzel & Kloetzel, 1958).

O comprometimento hepático da esquistossomose compreende fundamentalmente cinco etapas (Kelner & Silveira, 1997; Rihet et al., 1992; Domingues, 2001; Symmers, 1908; Kelner et al., 1982; Silveira & Kelner, 1997; Santos, 1991; Ferraz et al., 2002):

- infecção maciça por *S. mansoni*;
- fixação dos parasitos nas raízes das veias mesentéricas;
- migração dos ovos e vermes mortos para dentro do fígado;
- desenvolvimento da hipertensão portal;
- ruptura das varizes esofagianas.

A hipertensão portal esquistossomótica apresenta em sua fisiopatologia um bloqueio pré-sinusoidal do fluxo portal (Domingues & Domingues, 1994; El-Garem, 1998; Ferraz et al., 2000a, 2000b). Além do bloqueio pré-sinusoidal, a ação de *Schistosoma* determina uma reação imunorreativa tanto do fígado quanto do baço. Esta reação imunorreativa determina uma hiperplasia do sistema reticuloendotelial, característica do parasito, e conseqüente hiperfluxo portal (Domingues & Domingues, 1994; Ferraz et al., 2001a; Domingues, 2001; Ferraz et al., 2000a, 2000b).

A grande representação clínica da hipertensão portal é a formação de varizes esofagianas. Esta formação adquire importância fundamental, pois é a ruptura das varizes esofagianas a principal etiologia dos casos de óbito na esquistossomose hepatoesplênica (Domingues & Domingues, 1994; Ferraz et al., 2000a, 2001a, 2001b; Cury, 1995; Domingues, 2001; Kelner et al., 1982; Ferraz & Ferraz, 1994).

As varizes de esôfago são decorrentes do aumento da pressão portal. A hipertensão portal é uma síndrome caracterizada pelo aumento persistente dos níveis de pressão na veia porta, que resulta da interação

entre o fluxo portal e a resistência hepática. Elevações nestes dois fatores exercem um efeito multiplicador, que é expresso matematicamente pela lei de Ohms (Rocha, 1995; Mies, Almeida & Raia, 1988):

$$P = Q \times R;$$
P = pressão;
Q = fluxo;
R = resistência.

O sistema porta é desprovido de válvulas e o aumento em sua pressão determina uma dilatação da mesma e de suas tributárias. Em algumas ocasiões ocorre inversão do fluxo sanguíneo, com o surgimento de importante rede de colaterais, fazendo com que o sangue alcance o átrio direito sem ultrapassar o fígado (fluxo hepatofugal) (Barreto, 1994).

Com o aumento da pressão portal provocado pela dificuldade de o sangue fluir em direção ao fígado, há uma natural necessidade de este sangue atingir o coração direito através de sistemas de baixa pressão. A conexão entre o sangue do sistema portal e a veia cava inferior poderá se dar no nível do retroperitônio, do reto, do canal de Arantius e das veias umbilicais (Kelner & Silveira, 1997). Estas comunicações, entretanto, dificilmente apresentam ruptura.

No nível da junção esofagogástrica existe um plexo venoso que interliga o sangue portal com a veia cava superior, através das veias diafragmáticas e da mamária interna. Este plexo venoso pode receber sangue das veias gástrica esquerda, gástrica direita, gástrica posterior e gastroepiplóica. As veias destas conexões, sob um regime de hipertensão, adquirem características de varizes.

A disposição anatômica das veias do esôfago é o que tem determinado uma maior susceptibilidade de ruptura e sangramentos. As vênulas do esôfago, a partir do cárdia, ascendiam numa extensão de 4-5 cm (Carvalho, 1966). Estas veias da submucosa gástrica, em sua ascensão para o esôfago, 'perfuram' a camada muscular da mucosa e correm pela mucosa distal do esôfago, e depois de cerca de 3 cm da ascensão voltam a 'perfurar' a submucosa. Este segmento, onde as veias esofágicas se localizam na mucosa do esôfago, foi denominado por Kelner (1965) como uma 'zona vulnerável', pois estão susceptíveis a ulceração, ruptura e hemorragia. Sherlock (1990) também correlaciona um fluxo sanguíneo turbulento nestas veias como um fator que contribui para a maior susceptibilidade de ruptura das varizes, na região.

Qualquer paciente que, acometido de uma doença hepática, apresente uma pressão portal acima de 10-12 mmHg está susceptível de desenvolver varizes de esôfago (Viallet et al., 1975; Lebrec et al., 1980; Garcia-Tsao et al., 1985). Apesar de a hipertensão portal ser o fator predisponente ao desenvolvimento das varizes de esôfago, não se comprovou que seja a causadora direta da ruptura dessas varizes (Kelner, Silveira & Silveira, 1997).

Segundo a lei de Laplace, a pressão intravaricosa está diretamente relacionada ao raio da variz (calibre) e inversamente à espessura da parede da veia (Cury, 1995).

O desenvolvimento de sangramento através das varizes esofágicas está relacionado à presença de fatores de risco bem estabelecidos. Dentre estes fatores de risco, são aceitos o tamanho da variz, a presença de sinais avermelhados na variz e o grau de severidade da doença hepática (Grace et al., 1998; The North Italian Endoscopy Club for the Study and Treatment of Esophageal Variceal, 1988).

Lebrec (2000) considera como fatores de risco ao desenvolvimento de sangramento por varizes de esôfago os fatores expostos no Quadro 1.

Quadro 1 – Fatores de risco de sangramento de varizes esofagianas

Fatores Clínicos	Presença de cirrose
	Função hepática comprometida
	(Child B ou C)
	Etiologia da cirrose
Fatores Hemodinâmicos	Pressão portal » 12 mmHg
	Pressão de variz » 15 mmHg
Fatores Endoscópicos	Varizes acima de 5 mm
	Aspecto da variz – sinais avermelhados na superfície
Fatores Ultra-sonográficos	Fluxo porta-hepatopetal
	Índice de congestão da veia porta
Fatores Outros	Infecção bacteriana
	Ingesta de drogas antiinflamatórias
	Abuso de álcool

ANATOMIA PATOLÓGICA

A esquistossomose na forma hepatoesplênica provoca uma progressiva fibrose e alteração da arquitetura hepática. Tanto os ovos que migram para o fígado como os vermes mortos obstruem os pequenos ramos portais, anteriormente à rede sinusoidal, provocando intensa reação inflamatória granulomatosa e, conseqüentemente, progressiva fibrose portal (Barreto, 1997). O infiltrado inflamatório é composto por 50% de eosinófilos, 30% de macrófagos e 20% de linfócitos (Weinstock, 1992).

As alterações da esquistossomose são essencialmente mesenquimal e não parenquimal. A arquitetura normal do lobo hepático mantém-se preservada (El-Garem, 1998).

Utiliza-se, ainda, a classificação proposta por Coelho (1971). De acordo com a sua intensidade, o grau de fibrose foi classificado em:

- Grau I: os espaços porta apresentam-se com maior riqueza de células conjuntivas jovens, discreta produção de colágeno e presença variável de infiltrado inflamatório. A lâmina periportal e o retículo permanecem normais;
- Grau II: há expansão do tecido conjuntivo com emissão de septos colágenos radiais, dando ao mesmo um aspecto estrelado;
- Grau III: os septos conjuntivos formam pontes com outros espaços porta ou com a veia, havendo neoformação angiomatóide bem evidente.

A modulação da resposta granulomatosa e o estímulo de desenvolver fibrose hepática são dependentes da estimulação do linfócito T e do tipo de resposta desencadeada pelo balanço das citocinas liberadas (Th1 e Th2) (Domingues, 2001).

Ferraz et al. (2000a, 2001a, 2003b) demonstraram a relação direta existente entre o grau de fibrose periportal e os resultados cirúrgicos da esquistossomose. Pacientes portadores de fibrose periportal do grau I apresentam uma recidiva hemorrágica pós-operatória de 3,4%, enquanto pacientes portadores de fibrose graus II e III apresentam recidiva de 21% e 15,9, respectivamente.

TRATAMENTO CIRÚRGICO

Antes de se abordar diretamente o tratamento cirúrgico da esquistossomose mansoni, faz-se necessária uma abordagem sobre algumas condutas não operatórias da hipertensão portal, determinadas pela doença (Ferraz et al., 2001c; Domingues et al., 1993; Domingues, 1998; Mies et al., 1980).

Tratamento da Hipertensão Portal

O tratamento clínico da hipertensão portal tem por finalidades:

- a adoção de medidas profiláticas do primeiro sangramento;
- o tratamento do episódio agudo de sangramento;
- a prevenção da recidiva hemorrágica.

Medidas Profiláticas do Primeiro Sangramento

Instituir medidas profiláticas com o intuito de prevenir o primeiro episódio hemorrágico é um dos temas de maior controvérsia na condução de um paciente esquistossomótico, na forma hepatoesplênica. É essencial o conhecimento dos dados de história natural do paciente para orientar a conduta (Cury, 1995).

O único consenso neste ponto aponta para o tratamento etiológico da esquistossomose. Como já revelado anteriormente, o tratamento etiológico é capaz de diminuir a severidade da forma hepatoesplênica e o tamanho do baço e, conseqüentemente, o componente hiperdinâmico da hipertensão portal (Carneiro & Tabachi, 1995).

As medidas endoscópicas sobre as varizes de esôfago, sem que tenha havido um episódio de ruptura, estão restritas à esclerose e à ligadura elástica das varizes. Poucos dados na literatura avaliam sua eficácia. Paes (1991) analisou trinta pacientes seguidos durante 24 meses. Foram identificados em dois deles episódios de hemorragia digestiva, sem necessidade de transfusão sanguínea ou mortalidade. A falta de estudos controlados dificulta a utilização profilática de rotina. No entanto, não se podem desconsiderar os avanços obtidos nos métodos diagnósticos e preditivos da hemorragia digestiva. Os avanços na mensuração da pressão das varizes esofagianas, na pressão portal, e os avanços endoscópicos e ultra-sonográficos fizeram com que aumentasse a possibilidade de se predizer a possibilidade de risco do primeiro episódio e, com isto, se instituir uma propedêutica preventiva mais segura e eficaz.

A utilização de propanolol de maneira profilática e rotineira não tem sido difundida, principalmente porque:

- são necessárias altas doses de propanolol para se conseguir uma redução efetiva da pressão portal (Mies et al., 1997);
- cerca de 30% dos pacientes apresentaram contra-indicações relacionadas à droga (Salles, 2003);
- apenas 42,8% dos pacientes apresentaram resposta ao uso do propanolol (Salles, 2003).

Considera-se, portanto, que na esquistossomose não está indicada a cirurgia profilática ao primeiro sangramento.

Tratamento do Episódio Agudo de Sangramento

O atendimento de um paciente com um quadro de hemorragia digestiva de etiologia esquistossomótica não difere do tratamento de qualquer outra etiologia. No Quadro 2 é demonstrada a relação de medidas que poderão ser tomadas no atendimento do paciente portador de hemorragia digestiva por ruptura de varizes esofágicas (Ferraz & Ferraz, 2003).

As medidas gerais adotadas para o paciente que apresenta hemorragia digestiva visam à manutenção de um equilíbrio hemodinâmico e à redução ao máximo dos efeitos deletérios que este episódio pode determinar na função hepática, na coagulação e na função renal e respiratória do paciente.

Quadro 2 – Medidas terapêuticas no atendimento ao paciente portador de hemorragia digestiva por varizes de esôfago

Medidas gerais de suporte ao paciente
Confirmação diagnóstica
‣ da hemorragia digestiva
‣ da etiologia
Tratamento não cirúrgico
‣ balão de Sengstaken-Blakemore
‣ farmacológico
‣ endoscópico
▪ Esclerose
▪ ligadura elástica
‣ Tips
Tratamento cirúrgico-emergencial

Na maioria das vezes o paciente portador de variz esofagiana traz consigo alterações hematológicas que são exacerbadas pelo consumo do sangramento. A transfusão de plasma fresco deve ser instituída toda vez que o INR estiver acima de 1,5 e a transfusão de plaquetas, quando sua contagem estiver inferior a 50.000 mm^3. Também está indicada a administração de vitamina K.

A introdução de sonda nasogástrica em pacientes portadores de varizes em sangramento não agrava a situação (Goff, 1993) e desempenha importante papel em sua monitorização, na descompressão do estômago, na prevenção da aspiração pulmonar de conteúdo gástrico e na preparação do estômago para a realização da endoscopia. A lavagem nasogástrica com solução salina também tem sido recomendada (Passos & Castro, 1999).

A utilização de antibiótico de ação local (norfloxacino, neomicina), por via oral, tem sido recomendada apesar de resultados controversos e de difícil avaliação (Bernard et al., 1999).

A endoscopia digestiva é o exame de escolha para o diagnóstico da hemorragia digestiva. Não só a confirmação do ponto de sangramento da variz, como também a endoscopia digestiva alta permite uma definição da localização da variz, da intensidade do sangramento, de fatores preditivos e também pode funcionar como instrumento terapêutico.

A endoscopia digestiva dificilmente ajudará na definição etiológica do sangramento. A determinação da patologia de base poderá ser feita pela anamnese (história clínica, dados epidemiológicos e

antecedentes), por exame físico (esplenomegalia, ascite, aranha vasculares, ginecomastia) e por exames laboratoriais (marcadores virais).

O balão de tamponamento do tipo Sengstaken-Blakemore foi um dos primeiros procedimentos não cirúrgicos utilizados no controle da hemorragia por varizes. O índice de sucesso no controle do sangramento situa-se em torno de 70%-80%, no entanto sua ação é temporária e a taxa de ressangramento está em torno de 50%. O balão de tamponamento pode apresentar como complicações o ressangramento, broncoaspiração, arritmia cardíaca, esofagite, ulceração esofagiana, perfuração esofagiana e dor retroesternal (Rocha, 1995). Por apresentar uma taxa de aspiração em torno de 10%, foi realizada uma modificação que acrescenta um orifício de aspiração esofágica. Este tipo de balão de tamponamento é chamado de balão de Minnesota.

Uma série de agentes farmacológicos tem sido empregada no tratamento da hemorragia digestiva por varizes de esôfago. O objetivo destas drogas é diminuir a pressão portal.

O consenso da American Association for the Study of Liver Disease (Grace et al., 1998) sobre a utilização de drogas publicou que:

- a farmacoterapia é uma terapia efetiva no tratamento do sangramento esofágico;
- mostraram-se efetivos no tratamento da hemorragia digestiva por ruptura de varizes de esôfago a terlipressina, a vasopressina associada à nitroglicerina e a somatostatina;
- Mais estudos precisam determinar a verdadeira ação da octreotida.

O tratamento endoscópico, por intermédio da esclerose, é atualmente o padrão-ouro do tratamento de varizes esofagianas em sangramento, na medida em que consegue a parada do sangramento em mais de 90% dos casos (Rocha, 1995; Grace et al., 1998; Terblanche, 1990; Cordeiro, 1994; Laine & Cook, 1995). Em certas condições esta interrupção pode chegar perto dos 100%, como quando utilizado com um agente esclerosante, o adesivo tissular Histoacryl (Soehendra et al., 1986) ou quando se associam outras medidas terapêuticas.

A utilização da ligadura elástica no controle das varizes em sangramento tem apresentado resultados tão efetivos quanto os da esclerose (Laine & Cook, 1995; Cooper et al., 1996). O sentimento geral é de que a esclerose endoscópica é mais fácil de se realizar, e tem maior disponibilidade nas unidades hospitalares.

A utilização do Tips no controle da hemorragia digestiva de pacientes esquistossomóticos é bastante controversa. Com o Tips consegue-se uma descompressão do sistema portal por meio de uma comunicação intra-hepática com ramos da veia hepática. Com este procedimento se consegue uma redução abrupta e significativa da pressão portal (Rossle et al., 1994), semelhante à obtida nos procedimentos cirúrgicos de *shunt* (Echenagusia et al., 1994) e com taxas de sucesso em torno de 90%-95% (Rocha, 1995; Rossle et al., 1994; Grace, 1994). A grande vantagem do Tips é que é um procedimento relativamente simples, que evita uma cirurgia e que, principalmente, não compromete uma possível indicação de transplante de fígado. O problema da utilização de Tips no tratamento de varizes em sangramento é sua alta taxa de complicações (Grace et al., 1998). As principais complicações estão relacionadas com a estenose e/ou trombose da prótese e com a incidência elevada de encefalopatia. A estenose do Tips ocorre em cerca de 50%-70% dos casos durante o primeiro ano (Grace, 1994; LaBerge et al., 1993; Echenagusia et al., 1994; Sauer et al., 1994; Caldwell et al., 1995), fazendo com que seguimentos com ultra-sonografia Doppler se tornem obrigatórios e que reintervenções para dilatação do Tips sejam realizadas. A taxas de ressangramento por estenose e/ou trombose pode atingir níveis de 15%-30% (Grace et al., 1998).

A principal crítica ao uso do Tips em pacientes esquistossomóticos tem sido a deterioração clínica por ela determinada, piorando a função hepática e comprometendo a sobrevida do paciente. Como a

maioria dos episódios de sangramentos na esquistossomose são autolimitados e bastante responsivos ao tratamento endoscópico e os casos mais refratários, tratados, com bons resultados, cirurgicamente, a utilização do Tips tem sido evitada.

Prevenção da Recidiva Hemorrágica

A medida mais eficaz na prevenção da recidiva hemorrágica de pacientes esquistossomóticos tem sido o tratamento cirúrgico.

O tratamento endoscópico e o medicamento contra a recidiva hemorrágica apresentam alto índice de recidiva hemorrágica e uma mortalidade que compromete o método (Domingues, 2001; Ferraz et al., 2000a, 2001b; Salles, 2003; Sakai, 1995; Souza, Leôncio & Ferraz, 1997).

Em 1990, realizou-se no Hospital das Clínicas da UFPE um estudo no qual se avaliava a ocorrência da recidiva hemorrágica de pacientes esquistossomóticos vítimas de um sangramento digestivo. Naquele protocolo, havia três grupos de tratamento:

- Grupo 1 – Esclerose endoscópica;
- Grupo 2 – Esplenectomia + ligadura da veia gástrica esquerda + ligadura de varizes esofágicas;
- Grupo 3 – Esplenectomia + ligadura da veia gástrica esquerda + esclerose endoscópica.

Na análise preliminar dos dados (57 pacientes) e com seguimento de até dois anos, identificou-se uma incidência de recidiva hemorrágica de 21% (sete pacientes) no Grupo 1, tendo cinco pacientes necessitado de cirurgia de urgência para controlar o sangramento; destes, três foram a óbito. O estudo foi interrompido e, deste modo, desde 1992 o que se adotou por procedimento foi esplenectomia + ligadura da veia gástrica esquerda (LVGE) + desvascularização da grande curvatura do estômago + esclerose endoscópica pós-operatória, no tratamento da hipertensão portal esquistossomótica com antecedente de hemorragia digestiva (Souza, Leôncio & Ferraz). Os resultados preliminares que demonstravam resultados similares entre os Grupos 2 e 3 fizeram com que se optasse pela ligadura da veia gástrica esquerda e escleroterapia endoscópica pós-operatória, simplificando o ato cirúrgico e diminuindo as complicações relacionadas com a abertura do esôfago. Vale salientar, no entanto, a dificuldade de adesão dos pacientes ao programa de escleroterapia pós-operatória. Ferraz et al. (2001b) evidenciaram que apenas 45% dos pacientes retornaram para as sessões de escleroterapia. Identificou-se que vários pacientes não retornavam para a complementação endoscópica do tratamento cirúrgico por problemas socioeconômicos e, por se encontrarem clinicamente sem queixas, abandonavam o tratamento. Quando da ocorrência de uma complicação (hemorragia digestiva), o retorno ao hospital se deu de maneira mais assídua.

A utilização de propanolol na prevenção da recidiva hemorrágica tem sido limitada ao período que precede ao tratamento cirúrgico (Mies et al., 1997). Apesar de determinar uma redução na pressão portal da ordem de 33,6% (Coelho, Silva & Silveira, 1989) e, na pressão das varizes esofágicas, de 17,1% (Salles, 2003), o propanolol não tem sido empregado como terapêutica definitiva na prevenção da recidiva hemorrágica.

TRATAMENTO CIRÚRGICO

O tratamento cirúrgico na esquistossomose mansoni pode ser indicado em caso de:

- controle do episódio hemorrágico agudo;

- prevenção da recidiva hemorrágica;
- tratamento do hiperesplenismo;
- tratamento do hipogonadismo;
- dor e desconforto abdominal (baço de grande volume).

No entanto, o tratamento cirúrgico está indicado essencialmente na prevenção da recidiva hemorrágica.

A história natural da variz de esôfago na forma hepatoesplênica da esquistossomose mansoni considera que um terço dos pacientes com esquistossomose hepatoesplênica não irá desenvolver hemorragia digestiva alta. Este risco é maior nos portadores de varizes de grosso calibre e menor nas varizes de fino calibre. A mortalidade no primeiro sangramento destes pacientes foi de 11,7% (Kelner & Silveira, 1997). Analisando todos os casos de hemorragia digestiva alta em portadores de esquistossomose mansoni na forma hepatoesplênica, Kelner, Ferraz & Wanderley (1964) concluíram que o tratamento conservador obtém bons resultados em mais de 90% dos casos. Baseado nestes dados de história natural, considera-se que a hemorragia digestiva decorrente da esquistossomose mansoni apresenta um comportamento relativamente benigno que, associado aos dados de fisiopatologia, fazem com que seja adotada uma conduta mais conservadora no tratamento cirúrgico dos pacientes (Ferraz et al., 2000a, 2001a).

A recidiva hemorrágica é freqüente, imprevisível e com uma morbimortalidade crescente. Estima-se que no primeiro ano após o primeiro sangramento os pacientes esquistossomóticos apresentem uma recidiva hemorrágica de até 80% (Cury, 1995).

Na escolha da cirurgia a ser realizada, não deve o cirurgião visar apenas à redução da hipertensão portal, pois o estado geral do paciente, a etiologia da hipertensão portal e a capacidade funcional do fígado é que devem ditar a escolha do procedimento cirúrgico (Ferraz & Ferraz, 1994).

A cirurgia da hipertensão portal esquistossomótica difere essencialmente da cirurgia da hipertensão portal de pacientes cirróticos pelo fato de que a patologia esquistossomótica preserva, de certa maneira, a função hepática. Deste modo, na tentativa de se reduzir a pressão portal, quer pelo hiperfluxo quer pelo bloqueio pré-sinusoidal, o cirurgião deve sempre ter em mente que a cirurgia poderá interferir na perfusão hepática e conseqüentemente na funcionalidade do fígado (Ferraz & Ferraz, 1994). As duas correntes do tratamento cirúrgico da hipertensão portal esquistossomótica advogam pela cirurgia de derivação utilizada de maneira seletiva (esplenorrenal distal) ou as cirurgias de desconexões associadas à esplenectomia.

Os resultados quanto à recidiva da hemorragia a curto e em longo prazo se equivalem; no entanto, as cirurgias de desconexões associadas à esplenectomia não apresentam os inconvenientes do desvio do fluxo portal do fígado, que pode determinar deterioração da função hepática, encefalopatia e atrofia hepática. Por apresentar uma experiência de mais de quarenta anos com o tratamento da hipertensão portal esquistossomótica utilizando a esplenectomia associada à atuação direta nas varizes esofagianas e à ligadura da veia gástrica esquerda e apresentar resultados plenamente satisfatórios, continua-se a utilizar este tipo de tratamento no Serviço de Cirurgia Geral do HC da UFPE (Ferraz et al., 2000a, 2000b, 2001a, 2001b, 2002, 2003a, 2003b) (Tabela 1 e Quadro 3).

Baseados em uma experiência sólida e de resultados animadores, Kelner et al. (1982) realizam, desde a década de 1950, a esplenectomia com a ligadura das varizes esofagianas. Os resultados tardios deste tratamento, publicados somente em 1982, demonstram que, além de uma mortalidade operatória baixa, a recidiva de sangramento se manteve em índices semelhantes às cirurgias de *shunt*, com a vantagem da ausência de encefalopatia.

Com o aperfeiçoamento das técnicas de escleroterapia concluiu-se que a abordagem cirúrgica das varizes esofagianas poderia ser desnecessária e acrescentar um risco operatório ao procedimento clínico. Com um estudo prospectivo e randomizado, comprovou-se este pensamento. Ou seja, a ligadura das varizes esofagianas intra-operatória poderia ser substituída pela esclerose endoscópica (Ferraz et al., 2001b).

Este tipo de paciente deve ter um seguimento ambulatorial rígido, com sessões de esclerose endoscópica pós-operatória e orientações para evitar futuras contaminações de repetição. Pacientes que realizaram sessões pós-operatórias de esclerose endoscópica erradicaram as varizes em 52,7% dos casos. Nos pacientes em que o tratamento pós-operatório não teve continuidade a erradicação das varizes foi de apenas 18,2%. Esta diferença foi estatisticamente significativa (Ferraz et al., 2001b). Os resultados da escleroterapia endoscópica pós-esplenectomia demonstram uma significativa melhora quando comparados com os pacientes sem esplenectomia. Segundo Sakai (1995), a recidiva hemorrágica da escleroterapia endoscópica pós-esplenectomia é de 3% e nos pacientes sem esplenectomia esta recidiva chega aos 27%.

Tabela 1 – Resultados do procedimento de esplenectomia + desvascularização da grande curvatura do estômago + ligadura da veia gástrica esquerda + escleroterapia endoscópica pós-operatória (seguimento médio = trinta meses)

	N. pacientes	N. casos	%
Recidiva sangramento	111	16	14,4%
Hematêmese		08	7,2%
Melena		08	7,2%
Mortalidade total	111	06	5,4%
Operatória		02	1,8%
Tardia		04	3,6%
Permanência hospitalar	111	7,0 dias (média)	
Trombose da veia porta	68	09	13,2%
Escleroterapia pós-operatória	111	36	32,1%
Erradicou varizes esôfago	36	19	52,7%
Cirurgia sem escleroterapia pós-operatória	75	44	58, 6%
Erradicou varizes	44	08	18,2%
Varizes de fundo gástrico	11	41	36,9%
Calibre da veia porta			
Pré-operatório	50	1,32	$p < 0,001$
Pós-operatório	68	0,92	

Fonte: Ferraz et al. (2000a).

Quadro 3 – Análise hematológica e bioquímica pré e pós-esplenectomia + desvascularização da grande curvatura do estômago + ligadura da veia gástrica esquerda + escleroterapia endoscópica pós-operatória (seguimento médio = trinta meses)

	Pré-operatório	Pós-operatório	p value
Hematócrito (ml/dl)	31,60	39,17	< 0,001
Hemoglobina (g/dl)	10,21	13,00	< 0,001
WBC (mm3)	4162,18	7037,31	< 0,001
Linfócitos (mm3)	824,30	2.151,19	< 0,001
Plaquetas (mm3)	115.621,2	297.452,6	< 0,001
Protombina (sec.)	14,91	12,66	< 0,001
Glicose (mg/dl)	98,73	101,95	
Uréia (mg/dl)	29,65	28,23	
Creatinina (mg/dl)	0,83	0,73	
Albumina (g/dl)	3,58	3,97	< 0,05
AST (UI/L)	37,05	51,38	< 0,001
ALT (UI/L)	32,30	43,21	< 0,001
Bilirrubina total (mg/dl)	0,93	0,93	
Bilirrubina direta (mg/dl)	0,36	0,30	

Fonte: Ferraz et al. (2000a).

Baseado ainda em dados anatômicos e fisiopatológicos do sistema porta e dos possíveis benefícios da ligadura da veia gástrica esquerda durante a esplenectomia, tanto com benefícios nas varizes esofagianas, baixando sua pressão, quanto no fluxo da veia porta e na arterialização do fígado, foi acrescentada ao procedimento a ligadura da veia gástrica esquerda. Em uma casuística, Ferraz et al. (2000b) identificaram, com a realização da ultra-sonografia com Doppler, 13,2% de casos de trombose da veia porta. Este número se situa bem abaixo dos 30% descritos na desconexão ázigo-portal (Cápua Jr. & Szutan, 1995) e bem próximo dos 15,8% determinados pela esplenectomia e ligadura das varizes do esôfago (Kelner et al., 1982).

Quando da existência de varizes de fundo gástrico realizou-se, ainda, a abertura do fundo gástrico para a realização de uma sutura obliterante destas varizes. Este procedimento erradicou 76,5% das varizes de fundo gástrico, em um seguimento tardio médio de 26 meses. A abordagem direta das varizes de fundo gástrico é fundamental, pois o seu tratamento por via endoscópica é de difícil execução e, geralmente, é acompanhado de quadros graves de hemorragia digestiva alta (Ferraz et al., 2003a) (Tabela 2).

A cirurgia é capaz de corrigir alterações hematológicas (Quadro 3) e propiciar uma boa qualidade de vida aos pacientes. A recidiva hemorrágica, após um seguimento médio de trinta meses, foi de 14,4%, e a

Tabela 2 – Resultados da esplenectomia + desvascularização da grande curvatura do estômago + ligadura da veia gástrica esquerda + gastrostomia com ligadura das varizes gástricas (seguimento médio = 26,9 meses)

	Número de pacientes	Número de casos	%
Varizes de fundo gástrico	125	44	35,2%
Recidiva de sangramento	44	06	13,6%
Mortalidade total	44	04	9,8%
Operatória		02	4,9%
Tardia		02	4,9%
Permanência hospitalar	44	6,3 dias (média)	
Trombose da veia porta	34	03	8,8%
Endoscopia tardia	44 (4 óbitos)	34	85,0%
Erradicou varizes fundo gástrico	34	26	76,5%
Persistência de varizes de fundo gástrico			
Recidiva hemorragia digestiva	08	02	25,0%
Calibre da veia porta	08		0,86 cm

Fonte: Ferraz et al. (2003a).

mortalidade, de 5,4% (6/111). No entanto, desta mortalidade, apenas em três pacientes (2,7%) havia uma relação direta com a hipertensão portal esquistossomótica (Ferraz et al., 2000a, 2001a).

O grau de fibrose periportal tem influência na recidiva hemorrágica de pacientes portadores de hipertensão portal esquistossomótica submetidos a tratamento cirúrgico. Pacientes portadores de fibrose periportal do grau I apresentam uma recidiva hemorrágica pós-operatória de 3,4%, enquanto os pacientes portadores de fibrose graus II e III apresentam recidiva de 21% e 15,9%, respectivamente (Ferraz et al., 2000a, 2001a, 2003b) (Tabela 3).

Tabela 3 – Relação entre o grau de fibrose periportal e a recidiva hemorrágica pós-operatória, presença de varizes de fundo gástrico e calibre da veia porta

Fibrose Periportal (Grau)	N. pacientes	Hemorragia recorrente	Varizes fundo gástrico	Calibre veia porta
I	29	1 (3,4%)	8 (27,5%)	1,35cm
II	38	8 (21,0%) *	16 (42,1%)	1,37cm
III	44	7 (15,9%) *	17 (40,9%)	1,37cm
Total	111	16 – 14,4%	41 – 36,9%	

* $p < 0,05$ em relação ao grau I.

Fonte: Ferraz et al. (2003b).

O peso e o tamanho do baço também foram investigados quanto ao risco de desenvolvimento de complicações pós-operatórias e recidivas hemorrágicas. O peso do baço apresenta relação com o hiperesplenismo pré-operatório, subsidiados por dados hematológicos, com o calibre da veia porta e com a permanência hospitalar pós-operatória. Não se encontrou relação entre o peso do baço, a incidência de varizes de fundo gástrico, com a recidiva de sangramento digestivo, e a trombose da veia porta, o grau de fibrose periportal e os dados bioquímicos (Ferraz et al., 2002) (Tabela 4 e Quadro 4). O transplante de fígado tem indicação bastante limitada na hipertensão portal esquistossomótica (Ferraz & Ferraz, 2003). Os pacientes com este diagnóstico, quando controlados os episódios de hemorragia digestiva por ruptura de varizes esofagianas, apresentam uma expectativa e uma qualidade de vida normais. A indicação do transplante hepático ficaria limitada à associação de patologias que deterioram a função hepática, como as hepatites B e C, e por situações determinadas, que comprometam a função hepática, como procedimentos cirúrgicos. Procedimentos cirúrgicos que determinam um hipofluxo portal podem ocasionar uma atrofia hepática, com insuficiência hepatocelular e conseqüente indicação de transplante. Poucos dados na literatura tratam dos efeitos das drogas imunossupressoras na evolução de *S. mansoni*.

Tabela 4 – Relação entre o peso do baço e os resultados cirúrgicos de pacientes portadores de esquistossomose hepatoesplênica

	Peso do Baço		
	Grupo I < 500 gramas (N. = 17 pac.)	Grupo II 500 – 1.000 gramas (N. = 58 pac.)	Grupo III > 1.000 gramas p (N. = 39 pac.)
Seguimento médio	34,2 meses	30,1 meses	28,1 meses
Permanência hospitalar	4,2 dias	7,6 dias	7,0 dias*
Varizes de fundo gástrico			
pré-operatório	07 (41,2%)	20 (34,5%)	14 (35,9%)
Hiperesplenismo			
pré-operatório	05 (29,4%)	31 (53,4%)	30 (76,9%)*
Calibre da veia porta			
Pré-operatório	1,1 cm	1,4 cm	1,5 cm*
Pós-operatório	0,8 cm	0,9 cm	1,0 cm
Recidiva do sangramento	03 (17,6%)	09 (15,5%)	05 (12,8%)
Trombose da veia porta	01 (5,9%)	06 (10,3%)	02 (5,1%)

* $p < 0,05$.

Fonte: Ferraz et al. (2002).

Tabela 4 – Relação entre o peso do baço e os resultados cirúrgicos de pacientes portadores de esquistossomose hepatoesplênica (continuação)

	Peso do Baço		
	Grupo I < 500 gramas (N. = 17 pac.)	Grupo II 500 – 1.000 gramas (N. = 58 pac.)	Grupo III > 1.000 gramas p (N. = 39 pac.)
Fibrose periportal			
Grau I	02 (11,8%)	16 (27,6%)	08 (20,5%)
Grau II	07 (41,2%)	21 (36,2%)	16 (41,0%)
Grau III	08 (47,0%)	21 (36,2%)	15 (38,5%)
Mortalidade total	0	04 (6,9%)	02 (5,3%)
Operatória		02 (3,4%)	0
Tardia		02 (3,4%)	02 (5,3%)

* $p < 0,05$.

Fonte: Ferraz et al. (2002).

Quadro 4 – Relação entre o peso do baço e os dados hematológicos e bioquímicos de pacientes portadores de esquistossomose hepatoesplênica no período pré-operatório

	Peso do Baço		
	Grupo I < 500 gramas (N. = 17 pac.)	Grupo II 500 – 1.000 gramas (N. = 58 pac.)	Grupo III > 1.000 gramas (N. = 39 pac.)
Hematócrito	33,1	32,1	29,3*
Hemoglobina	10,8	10,2	10,0
Leucócitos	5.437,5	4.508,4	3.403,9*
Linfócitos	1.263,1	780,8	688,2*
Plaquetas	156.375,0	121.992,8	83.326,2*
Tempo de protombina	13,4	14,4	16,2*
Glicose	95,4	100,0	94,7
Uréia	27,1	33,9	32,2

* $p < 0,05$.

Fonte: Ferraz et al. (2002).

Quadro 4 – Relação entre o peso do baço e os dados hematológicos e bioquímicos de pacientes portadores de esquistossomose hepatoesplênica no período pré-operatório (continuação)

	Peso do Baço		
	Grupo I < 500 gramas (N. = 17 pac.)	Grupo II 500 – 1.000 gramas (N. = 58 pac.)	Grupo III > 1.000 gramas (N. = 39 pac.)
Creatinina	0,7	0,8	0,8
Albumina	3,5	3,7	3,7
TGO	39,4	38,4	36,3
TGP	31,0	34,8	35,6
Bilirrubinas totais	1,1	0,8	1,2

* $p < 0,05$.

Fonte: Ferraz et al. (2002).

Indica-se, portanto, no tratamento cirúrgico da hipertensão portal esquistossomótica com antecedentes de hemorragia digestiva, a esplenectomia + a desvascularização da grande curvatura do estômago + a ligadura da veia gástrica esquerda + a escleroterapia endoscópica pós-operatória, pois tal procedimento determina taxa de recidiva hemorrágica similar aos demais procedimentos de *shunts* e, principalmente, preserva a função hepática.

PERSPECTIVAS

Importantes melhorias foram alcançadas no controle da doença e na gravidade dos quadros clínicos da esquistossomose mansoni. Cada vez são realizadas menos operações em casos de hipertensão portal esquistossomótica, graças a medidas corretas adotadas para tratamento e erradicação do hospedeiro intermediário pelo Pece (Katz, 1998).

O prognóstico da esquistossomose na sua forma hepatoesplênica deve ser analisado sob diferentes aspectos. Segue um sumário destas informações.

Nos pacientes portadores da forma hepatoesplênica, o tratamento clínico determina uma involução da doença na ordem de 15%-40% (Andrade, 1998).

São necessários de 5-15 anos para a instalação da forma hepatoesplênica após a infecção ter sido contraída (Prata & Bina, 1968).

Cerca de 5%-8% dos pacientes esquistossomóticos poderão desenvolver a forma hepatoesplênica e, dos que desenvolverem esta forma, em média 87,5% irão apresentar varizes esofagianas (Domingues & Domingues, 1994; Ferraz et al., 2001a).

A incidência de hemorragia digestiva em pacientes portadores da forma hepatoesplênica varia entre 11%-25% (Cury, 1995).

Paciente portador de EHE apresenta uma mortalidade de 11,6% por ocasião do primeiro episódio de hemorragia digestiva alta (Kelner et al., 1982).

Pacientes portadores de fibrose periportal do grau I apresentam uma recidiva hemorrágica pós-operatória de 3,4%, ao passo que os pacientes portadores de fibrose graus II e III apresentam recidiva de 21% e 15,9%, respectivamente (Ferraz et al., 2003b).

Após esplenectomia + desvascularização da grande curvatura do estômago + ligadura da veia gástrica esquerda + escleroterapia endoscópica pós-operatória (seguimento médio = trinta meses), a recidiva hemorrágica foi de 14,4% e a mortalidade, de 5,4% (6/111). No entanto, apenas em três pacientes (2,7%) havia relação direta da mortalidade com a hipertensão portal esquistossomótica (Ferraz et al., 2000a, 2001a).

REFERÊNCIAS

ANDRADE, Z. A. The situation of hepatosplenic schistosomiasis in Brazil today. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93, supl. 1: 313-316, 1998.

BARRETO, V. S. T. Tratamento clínico da hipertensão porta. In: MALTA, J. *Esquistossomose Mansônica*. Recife: Editora Universitária UFPE, 1994.

BARRETO, V. S. T. Diferenciação clínico-patológica entre cirrose e fibrose de Symmers. In: KELNER, S. & SILVEIRA, M. *Varizes do Esôfago na Esquistossmose Mansônica*. Recife: Editora Universitária UFPE, 1997.

BERNARD, B. et al. Antibiotic prophylaxis for the prevention of bacterial infections in cirrhotic patients with gastrointestinal bleeding: a meta-analysis. *Hepatology*, 29(6): 1.655-1.661, 1999.

CALDWELL, D. M. et al. Multicenter investigation of the role of transjugular intrahepatic portosystemic shunt in management of portal hypertension. *Radiology*, 196: 335-340, 1995.

CAPUA JR., A. & SZUTAN, L. A. Desconexão azigo-portal e esplenectomia mais escleroterapia no tratamento da hipertensão portal. In: ABRANTES, W. *Hipertensão Portal: estado atual*. São Paulo: Robe, 1995.

CARNEIRO, J. L. & TABACHI, J. R. Controvérsias sobre a cirurgia de eleição na hipertensão portal. In: ABRANTES, W. *Hipertensão Portal: estado atual*. São Paulo: Robe, 1995.

CARVALHO, C. A. F. Considerações sobre características hidronâmicas das veias intramurais do segmento de transição esôfago-gástrica nos casos de corrente ascendente e sua participação na formação de varizes esofagianas. *O Hospital*, 70: 1.541-1.561, 1966.

COELHO, J. L.; SILVA, A. T. & SILVEIRA, G. M. Propanolol em portadores de hipertensão portal esquistossomática: estudos hemodinâmicos. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, 16: 4, 1989.

COELHO, R. B. Lesões hepáticas secundárias. In: COELHO, R. B. *Anatomia Patológica das Afecções Hepáticas*. Recife: Editora Universitária UFPE, 1971.

COOPER, M. Outcomes of rubber band ligation (RBL) af acute variceal hemorrhage: comparing those with na identifiable bleeding site vs those with varices and no other bleeding sources. *Gastrointestinal Endoscopy*, 43: 332A, 1996.

CORDEIRO, F. Esclerose de varizes esofágica. In: MALTA, J. *Esquistossomose Mansônica*. Recife: Editora Universitária UFPE, 1994.

COURA, J. R. et al. Morbidade da esquistossomose mansônica no Brasil, estudo de 4.652 casos observados no Rio de Janeiro de 1960 a 1976. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 77(1): 69-88, 1982.

CURY, A. A. Hipertensão portal esquistossomática: história natural. In: ABRANTES, W. *Hipertensão Portal: estado atual*. São Paulo: Robe, 1995.

DOMINGUES, A. L. C. *Ultra-sonografia na Esquistossomose Mansônica Hepato-Esplênica: avaliação da intensidade da fibrose periportal e da hipertensão porta*, 1998. Tese de Doutorado, Recife: Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

DOMINGUES, A. L. C. Esquistossomose mansônica. In: FILGUEIRA, N. A. et al. *Condutas em Clínica Médica*. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.

DOMINGUES, A. L. C. & DOMINGUES, L. A. W. Forma intestinal, hepatointestinal e hepatoesplênica. In: MALTA, J. *Esquistossomose Mansônica*. Recife: Editora Universitária UFPE, 1994.

DOMINGUES, A. L. C. et al. An ultrasonographic study of liver fibrosis in patients infected with *Schistosoma mansoni* in Northeast Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 81: 555-558, 1993.

ECHENAGUSIA, A. J. et al. Variceal haemorrhage: efficacy of transjugular intrahepatic portosystemic shunts created with Strecker Stents. *Radiology*, 192: 235-240, 1994.

EL-GAREM, A.A. Schistosomiasis. *Digestión*, 59: 589-605, 1998.

FERRAZ, A. A. B. & FERRAZ, E. M. Hemorragia digestiva alta. In: FERRAZ, A. A. B.; MATHIAS, C. A. C. & FERRAZ, E. M. *Condutas em Cirurgia Geral*. Rio de Janeiro: Medsi, 2003.

FERRAZ, A. A. B. et al. Tratamento cirúrgico da hipertensão portal esquistossomática no HC-UFPE – análise de 131 casos. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, 27(5): 332-337, 2000a.

FERRAZ, A. A. B. et al. Trombosis de la vena porta despús de esplenectomia para hipertension portal esquistosómica. *Revista Colombiana de Cirurgia*, 15(3): 1-7, 2000b.

FERRAZ, A. A. B. et al. Recuperação do íleo paralítico pós-operatório em pacientes esquistossomáticos: análise eletromiografica da motilidade colônica. *Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva*, 14(1): 12-18, 2001a.

FERRAZ, A. A. B. et al. Splenectomy + left gastric vein ligature + devascularization of the great curvature of the stomach in the treatment of hepatosplenic schistosomiasis. Postoperative endoscopic sclerosis is necessary? *Arquivos de Gastroenterologia*, 38(2): 84-88, 2001b.

FERRAZ, A. A. B. et al. Surgical treatment of schistosomal portal hypertension. *International Surgery*, 86: 1-8, 2001c.

FERRAZ, A. A. B. et al. Peso do baço como fator prognóstico do tratamento cirúrgico de pacientes portadores de esquistossomose mansônica. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, 29(1): 29-35, 2002.

FERRAZ, A. A. B. et al. The influence of periportal (pipestem) fibrosis on long term results of surgical treatment for schistosomotic portal hypertension. *Arquivos de Gastroenterologia*, 40(1): 4-10, 2003a.

FERRAZ, A. A. B. et al. Varizes de fundo gástrico na hipertensão portal esquistossomática: resultados cirúrgicos. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, 30: 21-28, 2003b.

FERRAZ, E. M. & FERRAZ, A. A. B. Tratamento cirúrgico da hipertensão portal esquistossomática. In: MALTA, J. *Esquistossomose Mansônica*. Recife: Editora Universitária UFPE, 1994.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). Guia de Vigilância Epidemiológica: esquistossomose mansônica. Disponível em: <www.funasa.gov.br/>. Acesso em: 28 jan. 2008.

GARCIA-TSAO, G. et al. Portal pressure presence of gratoesophageal varices and variceal bleeding. *Hepatology*, 5: 419-424, 1985.

GOFF, J. S. Gastroesophageal varices: pathogenesis and theraphy of acute bleeding. *Gastroenterology Clinics of North America*, 22: 779-800, 1993.

GRACE, N. D. The side-to-side portocaval shunt revisted. *The New England Journal of Medicine*, 330: 208-209, 1994.

GRACE, N. D. et al. Portal hypertension and variceal bleeding: na AASLD single topic symposium. *Hepatology*, 28(3): 868-880, 1998.

KATZ, N. Schistosomiasis control in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93, supl. I: 33-35, 1998.

KELNER, S. *Avaliação da Esplenectomia e Ligadura Intraeosafiana das Varizes do Esôfago na Esquistossomose Mansônica*, 1965. Tese para Professor Catedrático, Recife: Faculdade de Medicina, Universidade do Recife.

KELNER, S. & SILVEIRA, M. História natural das varizes do esôfago na esquistossomose mansônica hepatoesplênica. In: KELNER, S. & SILVEIRA, M. *Varizes do Esôfago na Esquistossomose Mansônica*. Recife: Editora Universitária UFPE, 1997.

KELNER, S.; FERRAZ, E. M. & WANDERLEY, F. Hematêmese: inquérito sobre desencadeamento por drogas contendo ácido acetilsalicílico na hipertensão porta esquistossomática. *Anais da Faculdade de Medicina da Universidade do Recife*, 24: 153-165, 1964.

KELNER, S.; SILVEIRA, M. & SILVEIRA, R. K. Causas da rotura das varizes do esôfago: 'zona vulnerável'. In: KELNER, S. & SILVEIRA, M. Varizes do esôfago na esquistossmose mansônica. Recife: Editora Universitária UFPE, 1997.

KELNER, S. et al. Ligadura de varizes esôfago-gástricas na hipertensão porta esquistossomática: evolução de 25 anos. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, 9: 140-146, 1982.

KLOETZEL, K. & HULSTER, N. H. Repeated mass treatment of schistosomiasis mansoni: experience in hyperdinamic áreas of Brazil. I. Parasitological effects and morbidity. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 81: 365-370, 1987.

KLOETZEL, K. & KLOETZEL, J. A Síndrome hepatoesplênica na esquistossomose mansônica. Considerações sobre uma série de 119 casos. *Revista Brasileira de Medicina*, 15(172): 178, 1958.

LA BERGE, J. M. et al. Creation of trosnjugular intrahepatic portosystemic shunts with the Wallstent endoprothesis: results in 100 patients. *Radiology*, 187: 413-420, 1993.

LAINE, L. & COOK, D. Endoscopic ligation compared with sclerotheraphy for treatment of esophageal variceal bleeding: a meta-analysis. *Annals of Internal Medicine*, 123: 280-287, 1995.

LEBREC, D. Pretransplantation gastrointestinal bleeding. *Liver Transplantation*, 6(4): S57-S62, 2000.

LEBREC, D. et al. Portal hypertension size of oesophageal varices and risks of gastrointestinal bleeding in alcoholic cirrhosis. *Gastroenterology*, 79: 1.139-1.144, 1980.

MENEZES NETO, A. G. Espenectomia e derivação esplenorenal distal realizadas em Sergipe, antes e após o programa especial de controle da esquistossomose (PECE). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 20: 41-43, 1987.

MIES, S.; ALMEIDA, C. G. & RAIA, S. M. A. Hipertensão portal. In: RAIA, A. A. & ZERBINI, E. J. *Clínica Cirúrgica Alípio Corrêa Netto*. São Paulo: Sarvier, 1988. v. 4

MIES, S. et al. A veia cava inferior e as veias supra-hepáticas na Esquistossomose hepatoesplênica. Estudo angiográfico. *Revista do Hospital das Clínicas*, 35: 136-142, 1980.

MIES, S. et al. Systemic and hepatic hemodynamics in hepatosplenic Mason´s schistsosomiasis with and without propanolol. *Digestive Diseases and Sciences*, 42(4): 751-761, 1997.

PAES, I. B. Escleroterapia profilática das varizes esofagogástrica. Existem evidências de sua eficácia? In: CASTRO, L. P.; ROCHA, P. R. S. & CUNHA, A. S. (Orgs.) *Tópicos em Gastroenterologia*. Rio de Janeiro: Medsi, 1991.

PASSOS, M. C. F. & CASTRO, L. P. Hemorragia digestiva alta: diagnóstico e tratamento clínico e endoscópico. In: BATISTA NETO, J. *Cirurgia de Urgência: condutas*. Rio de Janeiro: Revinter, 1999.

PRATA, A. & BINA, J. C. Development of the hepatosplenic form of schistosomiasis. *Gazeta Médica da Bahia*, 68: 49-60, 1968.

RIHET, P. et al. Strong serum inhibition of specific IgE correlated to competing IgG4 revealed by a new methodology in subjects from *Schistosoma mansoni* area. *European Journal of Immunology*, 22: 2.063-2.070, 1992.

ROCHA, J. W. Conduta na hemorragia aguda por varizes esofagogástrica. In: ABRANTES, W. *Hipertensão Portal: estado atual*. São Paulo: Robe, 1995.

ROSSLE, M. et al. The transjugular intrahepatic portosystemic stent-shunts procedure for variceal bleeding. *The New England Journal of Medicine*, 330: 165-171, 1994.

SAKAI, P. Tratamento endoscópico das varizes sangrantes do esôfago. In: ABRANTES, W. *Hipertensão Portal: estado atual*. São Paulo: Robe, 1995.

SALLES, P. G. *Avaliação da Resposta ao Propanolol na Redução da Pressão Portal em Portadores da Forma Hepato-Esplênica da Esquistossomose Mansônica*, 2003. Dissertação de Mestrado, Recife: Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

SANTOS, O. C. *Estudos Morfométricos das Áreas Linfocitárias no Folículo de Baços em Esquistossomáticos Hepatoesplênicos*, 1991. Dissertação de Mestrado, Recife: Universidade Federal de Pernambuco.

SAUER, P. et al. Stent stenosis ofter transjugular intrahepatic portosystemic shunt. *Hepatology*, 20: 108A, 1994.

SHERLOCK, S. Esophageal varices. *American Journal of Surgery*, 160: 9-13, 1990.

SILVEIRA, M. J. & KELNER, S. Alterações hemodinâmicas do sistema porta da esquistossomose hepatoesplênica. In: KELNER, S. & SILVERA, M. *Varizes do Esôfago na Esquistossomose Mansônica*. Recife: Editora Universitária UFPE, 1997.

SILVEIRA, R. K.; SILVEIRA, M. & KELNER, S. Prevalência de sexo, raça e grupo etário entre 3086 portadores de esquistossomose hepatoesplênica. In: KELNER, S. & SILVEIRA, M. *Varizes do Esôfago na Esquistossomose Mansônica*. Recife: Editora Universitária UFPE, 1997.

SOEHENDRA, N. et al. Endoscopic obliteration of large esophagogastric varices with bucrylate. *Endoscopy*, 18: 25-26, 1986.

SOUZA JR., E. C.; LEÔNCIO, M. P. & FERRAZ, E. M. Tratamento cirúrgico da hipertensão porta esquistossomática: estudo prospectivo randomizado de três modalidades terapêuticas. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*, 24: 98, 1997.

SYMMERS, W. S. T. C. Note on a new form of liver cirrhosis due to the presence of the bilharzias hematobia. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, 9(2): 237-239, 1908.

TERBLANCHE, J. Has esclerotheraphy altered the management of patients with variceal bleeding ? *American Journal of Surgery*, 160: 37, 1990.

THE NORTH ITALIAN ENDOSCOPY CLUB FOR THE STUDY AND TREATMENT OF ESOPHAGEAL VARICEAL (NIEC). Prediction of the first variceal hemorrhage in patients with cirrhosis of the liver and esophageal varices: a prospective multicenter study. *The New England Journal of Medicine*, 319: 983-989, 1988.

VIALLET, A. et al. Hemodynamic evaluation of patients with intrahepatic portal hypertension. Relationship between bleeding varices and the portohepatic gradient. *Gastroenterology*, 69: 1.297-1.300, 1975.

WEINSTOCK, J. V. The pathogenesis of granulomatous inflammation and organ injury in schistosomiasis: interections between the schistosoma ova and the host. *Immunological Investigations*, 21: 455-475, 1992.

PARTE V
Diagnóstico

31 Diagnóstico Parasitológico, Imunológico e Molecular da Esquistossomose Mansoni

Ana Rabello
Luís André Pontes
Martin Johannes Enk
Silvia Maria Lucena Montenegro
Clarice N. Lins de Morais

Ovo maduro de *Schistosoma mansoni*.
Fonte: http://www.path.cam.ac.uk/~schisto/SchistoLife/S.mansoni.egg.html

O diagnóstico preciso da esquistossomose consiste em um instrumento-chave para aspectos importantes da infecção, como os determinantes epidemiológicos, os fatores relacionados à morbidade, as avaliações de intervenções terapêuticas e o acompanhamento de medidas de controle. Durante o século XX, embora tenham sido limitados os investimentos em métodos diagnósticos da esquistossomose, muito se alcançou, como será descrito ao longo deste capítulo. Entretanto, neste início de século XXI, o método ideal, que associe elevada eficácia, baixo custo e simplicidade operacional, ainda não está disponível. É relevante lembrar que a escassez de investimentos em pesquisa e desenvolvimento de métodos de diagnóstico da esquistossomose compõe o panorama da política de produção voltada para o mercado, deixando órfãs as doenças negligenciadas que atingem a grande maioria da população global.

ASPECTOS HISTÓRICOS

Em 1852, quando Theodor Bilharz, médico alemão que trabalhava no Egito, descreveu pela primeira vez a doença parasitária que mais tarde se chamaria esquistossomose, apresentou também a primeira contribuição às técnicas diagnósticas da infecção: os desenhos dos ovos espiculados. Estes mesmos desenhos, ainda que revelassem um erro conceitual, constituíram o princípio teórico para a descrição da parasitose. Bilharz se enganou ao considerar os ovos de espículos terminais e os de espículos laterais como pertencentes à mesma espécie. Este conceito foi questionado por Patrick Manson (1902), que definiu a existência de espécies distintas, e foi defendido por Looss (1909), que explicava a formação dos ovos com espículo lateral como sendo conseqüência do excesso de células vitelinas no oótipo. A polêmica persistiu por meia década até que Sambom, em 1907, estabeleceu o nome da nova espécie: *Schistosoma mansoni*. Um ano mais tarde, Pirajá da Silva (1908) descrevia a esquistossomose mansoni na Bahia, reforçando a existência de uma espécie distinta, que provocava acometimento intestinal nos pacientes infectados e cujos ovos apresentavam espículo lateral. Em 1919, Adolpho Lutz descreveu a primeira modificação do método diagnóstico da esquistossomose: homogeneização e sedimentação das fezes.

Simultaneamente, ocorriam os avanços científicos na área do conhecimento imunológico. A reação de fixação de complemento foi desenvolvida por Bordet & Gengou em 1901, sendo aos poucos estabelecido o conceito de anticorpos (na época, denominados *amboceptors*). O método de fixação do complemento foi então aplicado para o diagnóstico do tifo abdominal e da sífilis, por Wasserman, Neisser & Bruck (1906). Baseados nesses estudos, grupos de pesquisadores japoneses (Fujinami & Nakamura, 1909; Yoshimoto, 1910; Hayami & Tanaka, 1910; Sueyasu, 1916) descreveram e testaram a primeira técnica imunológica para o diagnóstico da esquistossomose. Mais tarde, em 1919, Fairley utilizou o mesmo método, usando como antígeno hepatopâncreas de moluscos infectados, e ainda desenvolveu um teste de reação intradérmica. Em 1960, o teste de anticorpo fluorescente foi introduzido para o diagnóstico da esquistossomose mansoni (Sadun, Williams & Anderson, 1960) e alguns anos mais tarde Buck et al. (1964), na Etiópia, avaliaram o teste de fixação de complemento e o teste que utilizava anticorpo fluorescente, concluindo que o teste de fixação de complemento era a técnica mais sensível. Desde então, a utilização de técnicas de diagnóstico para a esquistossomose tem acompanhado passo a passo o desenvolvimento tecnológico médico-laboratorial mundial.

Exemplo curioso das conseqüências do desenvolvimento tecnológico refere-se à própria história da esquistossomose. Até 1992, a descrição mais antiga da esquistossomose cabia a Ruffer (1910), que relatou a presença de ovos calcificados nos rins de duas múmias egípcias da vigésima dinastia (1250-1000 anos antes de Cristo). Por meio da detecção de antígenos circulantes do parasito nos tecidos de múmias egípcias, sabe-se hoje que a humanidade convive com a esquistossomose desde os 3000 anos antes de Cristo (Miller et al., 1992).

CATEGORIAS DOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

Neste capítulo serão abordados os métodos laboratoriais de diagnóstico da esquistossomose mansoni. Os métodos de diagnóstico da esquistossomose podem ser agrupados em duas categorias: métodos de diagnóstico direto e métodos de diagnóstico indireto. São considerados diretos os métodos que detectam

o parasito ou suas partes, como ovos, substâncias antigênicas ou fragmentos moleculares. Os métodos indiretos identificam evidências indiretas da presença do parasito e dependem de marcadores clínicos, bioquímicos ou imunológicos associados à infecção (Quadro 1).

Quadro 1 – Categorias dos métodos diagnósticos

Categoria	Métodos	Detecção de
Diretos	Exame de fezes ou biópsia de mucosa retal	Ovos eliminados pelas fêmeas
	Pesquisa de antígenos circulantes	Substâncias antigênicas presentes em tegumento ou material de regurgitação
	Reação em cadeia da polimerase	DNA de ovos, tegumento ou material de regurgitação
Indiretos	Clínicos: sintomas e sinais	Diarréia, sangue nas fezes, hepatoesplenomegalia
	Propedêutica clínica	Alterações ultra-sonográficas e hemodinâmicas
	Imunológicos: reação intradérmica	Imunidade celular específica
	Imunológicos: sorológicos	Imunidade humoral específica

Métodos Diretos: exame parasitológico de fezes

O diagnóstico da infecção por *S. mansoni* por meio de métodos parasitológicos ou coproscópicos é baseado na observação microscópica dos ovos dos parasitos nas fezes. Este conjunto de métodos permanece como o instrumento mais largamente utilizado, principalmente por seu baixo custo operacional e sua praticidade em situações de infra-estrutura laboratorial precária.

Técnicas Qualitativas e Quantitativas

As técnicas coproscópicas se dividem em dois grupos. O primeiro abrange técnicas qualitativas que somente informam a presença ou ausência de ovos do parasito. O segundo grupo se compõe de técnicas quantitativas que, além de detectarem a presença do parasito, determinam o número de ovos por grama de fezes do material examinado.

Os exames qualitativos podem ser realizados com mais facilidade e mais rapidamente, porém os exames quantitativos permitem estimar a carga parasitária e realizar projeções sobre a dinâmica da infecção, especialmente em comunidades. Mediante a determinação da distribuição média do número de ovos por grama de fezes, que reflete a carga parasitária de um grupo populacional, é possível obter indicadores epidemiológicos utilizados em programas de controle (Quadro 2).

Um exemplo desta importância é a avaliação dos resultados alcançados com as medidas de controle implementadas em determinada região endêmica, que podem se mostrar reduzidos se baseados exclusivamente na determinação da prevalência, mas podem revelar importantes repercussões ocorridas na intensidade da infecção na população tratada (OMS, 1994).

Quadro 2 – Indicadores epidemiológicos que podem ser obtidos pelo uso de métodos quantitativos e exemplos de utilização destas informações

Indicadores Epidemiológicos	Exemplos de Utilidade
Intensidade da infecção	Definição de estratégia de tratamento e controle em área endêmica
Fatores associados ao risco de infecção ou de adoecimento	Identificação de grupos populacionais mais vulneráveis à infecção, como crianças ou trabalhadores rurais
Intensidade de morbidade	Permite a definição da estratégia de tratamento e a necessidade de reavaliações mais freqüentes de grupos populacionais mais parasitados
Impacto da terapêutica sobre a redução de parasitos em uma comunidade	Possibilita avaliar o percentual de redução de ovos eliminados nas fezes em uma população após diferentes estratégias de controle
Avaliação da quimioterapia ou possível resistência a drogas	O exame qualitativo pode persistir positivo, mas a quantificação permite avaliar se a droga foi parcialmente ativa
Comparação de dados entre áreas endêmicas	A determinação da carga parasitária permite entender diferenças entre morbidade, fatores associados à infecção e resposta terapêutica de diferentes estudos

DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO

Técnicas Parasitológicas Qualitativas

Inúmeras técnicas qualitativas encontram-se descritas na literatura científica. Algumas técnicas já não são utilizadas para o diagnóstico laboratorial da esquistossomose e serão brevemente mencionadas para informação ao leitor. São exemplos os exames diretos do material fecal em lâmina, sem preparação, que não são considerados adequados à pesquisa de ovos de *S. mansoni* por sua baixa sensibilidade (Hoffmann, Pons & Janer, 1934; Martins, 1937). Também as técnicas de flutuação (Willis, 1921; Faust et al., 1939) não são úteis à identificação dos ovos de *S. mansoni*, por estes serem pesados. Métodos de centrifugação (Faust, Ingalls & See, 1946; Sapero & Lawless, 1953; Blagg et al., 1955) apresentam baixa sensibilidade no diagnóstico da esquistossomose. Já a técnica de eclosão de miracídios é um método sensível, sendo principalmente indicado para a demonstração de viabilidade dos ovos do parasito em ensaios de drogas, mas não encontra aplicação prática, no diagnóstico da doença, por sua complexidade.

Sedimentação Espontânea das Fezes (Lutz/HPJ)

O método de sedimentação espontânea das fezes foi descrito por Lutz (1919) e padronizado por Hoffmann, Pons & Janer (1934), tornando-se conhecido como método de Lutz/HPJ. Neste procedimento, fezes suspensas em água são homogeneizadas e filtradas em tela metálica, para retenção de resíduos fecais de maiores dimensões, e deixadas a sedimentar, espontaneamente, por duas horas ou mais. A seguir, amostra do material depositado é examinada em microscópio ótico, entre lâmina e lamínula. Modificações do líquido diluidor, tempo e número de lavagens e substituição da tela metálica por gaze cirúrgica foram propostas com o objetivo de eliminar inconvenientes, como turvação do sedimento e necessidade de repetidas lavagens da tela metálica. Martins (1949), em revisão minuciosa da técnica, conclui ser o tríton NE 0,1% (solução de polietilenoglicol mono-isso-octil-éter) o líquido diluidor que oferece preparações mais claras, que a tela metálica é superior à gaze cirúrgica, por reter quatro vezes

menos ovos em suas malhas, e que a sedimentação ideal é feita em três etapas sucessivas de noventa, sessenta e trinta minutos.

Este é o método qualitativo mais difundido entre os laboratórios de análises clínicas, por ser de fácil execução e baixo custo, apresentar boa sensibilidade, não exigir aparelhagem especial e permitir o diagnóstico simultâneo de outras parasitoses.

Técnica do Formol-éter

Modificada por Knight et al. (1976), a técnica do formol-éter é mais usada no hemisfério Norte como uma alternativa para o método de sedimentação anteriormente mencionado. Em resumo, aproximadamente 1 g de fezes é emulsificado em solução de formol-água. A suspensão é coada e o éter é adicionado. Após centrifugação da suspensão, o sedimento é examinado com auxílio de um microscópio. Esta técnica alcança valores relativamente altos de sensibilidade para análises qualitativas (Engels et al., 1997). Além do diagnóstico da esquistossomose, este método permite o diagnóstico de outras infecções helmínticas e de protozoários. Infelizmente, a técnica é bastante trabalhosa e o risco do manuseio dos reagentes químicos são fatores limitantes de sua utilização, especialmente em condições de campo.

Técnicas Parasitológicas Quantitativas

Entre os métodos parasitológicos quantitativos encontram-se os de Bell (1963), de Barbosa (1965) e o mais utilizado, o de Kato, modificado por Katz, Chaves & Pellegrino (1972).

Método de Bell

Baseia-se na filtração de emulsão de quantidade (peso) conhecida de fezes, por duas telas finas (malhas de 500 e 350 micra) e posteriormente por papel de filtro, onde os ovos de *S. mansoni* ficam retidos. A seguir, acrescenta-se uma gota de solução saturada de ninidrina ao papel de filtro, com a finalidade de corar e facilitar a visualização dos ovos mediante exame microscópico. Este método não tem sido utilizado com freqüência, porque é de execução pouco prática.

Método de Barbosa

É uma técnica relativamente mais simples e econômica para o diagnóstico da esquistossomose mansoni. Cinco gramas de fezes são emulsionados em 25 ml de água. Após filtração da emulsão em gaze, o sedimento é colhido em frasco adequado e deixado a sedimentar por sessenta minutos. A seguir, despreza-se o sobrenadante e o volume do sedimento é medido. Com uma pipeta e mantendo o sedimento sob agitação constante, retira-se alíquota de 1 ml e examina-se ao microscópio, contando os ovos presentes. O cálculo para obtenção do número de ovos por grama de fezes é realizado com a seguinte fórmula:

$$\frac{\text{Números de ovos por lâmina x volume do sedimento}}{\text{Volume examinado x peso da amostra de fezes}}$$

A desvantagem deste método é sua baixa sensibilidade e a variação do volume do sedimento, prejudicando o resultado quantitativo. Sendo assim, o método tem pouca validade quando se trata de inquéritos epidemiológicos.

Método de Kato Modificado por Katz, Chaves e Pellegrino

Mais conhecido como método de Kato-Katz, esta técnica apresenta sensibilidade similar, ou melhor, do que os demais procedimentos quantitativos, com a vantagem da simplicidade de execução, do baixo custo e da possibilidade do armazenamento e transporte das lâminas em temperatura ambiente por meses, sem prejuízo dos resultados. O método permite o diagnóstico de outros helmintos, exceto de larvas de *Strongyloides* sp.

Em 1972, Katz, Chaves & Pellegrino modificaram o método anteriormente descrito em japonês por Kato & Miura (1954) e posteriormente aperfeiçoado por Kato (1960), simplificando a realização da técnica quantitativa, por tornar desnecessária a pesagem prévia da amostra de fezes. Aqueles autores utilizaram um pequeno retângulo de papelão (4 x 3 cm) com espessura de 1,37 mm, dotado de orifício de 6 mm de diâmetro em seu centro, para medir a quantidade de fezes a ser examinada. Colocando o cartão sobre uma lâmina de microscópio e preenchendo o orifício com fezes, auxiliado por um palito, após passá-las através de malha quadrada de 200 micra, obtém-se amostra que, em média, pesa 43,7 mg, com variações compreendidas entre 42,5 e 45,4 mg. As fezes obtidas são espalhadas sobre lâmina de vidro e cobertas com lamínula de celofane, previamente tratada durante 24 horas com solução de glicerina, água destilada e verde malaquita ou azul de metileno. Após a evaporação da água, a glicerina atua sobre o esfregaço das fezes, clarificando e permitindo a visualização dos ovos por exame microscópico. Para calcular o número de ovos contidos em 1 g de fezes, pode-se admitir que toda lâmina contenha 45 mg de fezes e, para se obter o resultado final aproximado, multiplica-se por 24 o número total de ovos encontrados na lâmina.

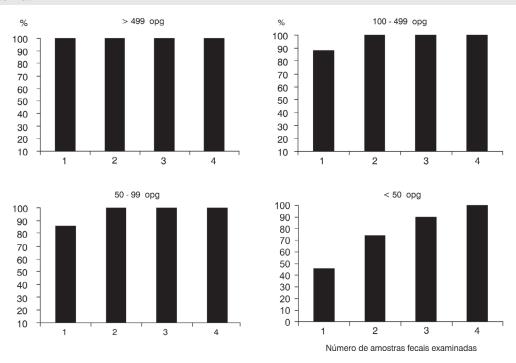
Atualmente, estão disponíveis *kits* de material plástico descartável, que permite que a técnica seja executada com maior biossegurança. Neste capítulo podem ser encontradas a descrição da realização do método de Kato-Katz e a ilustração do aspecto microscópico dos ovos.

Um fator limitante do método de Kato-Katz está relacionado à consistência das fezes e conseqüentemente à quantificação da excreção de ovos (Bell, 1963; Bout, Santoro & Capron, 1975; Hoshino-Shimizu et al., 1986). Como o cálculo do número de ovos por grama está sendo baseado na suposição de que a densidade das fezes é igual a um – porque a placa perfurada determina volume definido e não peso – uma amostra de fezes seca pode ter uma contagem de ovos até sete vezes maior que uma amostra úmida obtida do mesmo indivíduo (Hagan & Abath, 1992). Além disto, fezes líquidas, que podem estar associadas à esquistossomose, não podem ser processadas por este método (Jassim, Catty & Hassan, 1987). Outros fatores que limitam a precisão da quantificação dos ovos nas fezes são a flutuação diária na eliminação dos ovos e a distribuição desigual de ovos nas fezes (Barreto, Smith & Sleigh, 1990; De Vlas et al., 1997; Engels et al., 1997).

O método de Kato-Katz é o procedimento internacionalmente recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS, 1994) para o diagnóstico de *S. mansoni*, porque associa o melhor custo-benefício à maior praticidade.

A intensidade da infecção ou carga parasitária é definida pelo número de casais de vermes que parasitam o hospedeiro definitivo e está relacionada diretamente com o número de ovos nas fezes, exceto em presença de fibrose intestinal e de imunodeficiência, situações que prejudicam a extrusão dos ovos da mucosa intestinal. Quanto maior o número de casais de vermes, maior será o número de ovos encontrados nas fezes. Quando a carga parasitária é de intensidade moderada (100 a 500 ovos/grama de fezes) a

elevada (acima de 500 ovos/grama de fezes), as técnicas de diagnóstico parasitológico apresentam resultados satisfatórios. Em casos de cargas parasitárias baixas, as técnicas apresentam limitações. Estima-se que aproximadamente 200 ovos por casal, por dia, são eliminados em 200 g de fezes por dia. Apenas uma pequena amostra de 42 mg de fezes é examinada por esta técnica, sendo que a probabilidade de se detectar ovos diminui significativamente em casos de baixa intensidade de infecção. A probabilidade de se detectar uma infecção com um só casal de vermes por exame de uma só lâmina, pelo método de Kato-Katz, será de aproximadamente 1/24. Esta limitação, que afeta especialmente métodos quantitativos, pode ser superada pelo aumento do número de amostras (coleta de amostras de fezes em dias consecutivos) e também pelo aumento do número de lâminas examinadas por amostra (duas a três lâminas). Este procedimento é de grande importância na determinação de taxas de cura e na avaliação de drogas esquistossomicidas, quando se espera abrupto declínio na intensidade da infecção e conseqüentemente na quantidade de ovos eliminados nas fezes. Infecções com menos do que 50-100 ovos por grama de fezes podem não ser detectadas e resultarem em superestimativa de taxas de cura de drogas esquistossomicidas. De novo, a alternativa para aumentar a sensibilidade deste método é aumentar a quantidade do material examinado, isto é, aumentando o número de amostras e de lâminas por amostra. Estas considerações teóricas foram exaustivamente confirmadas na prática e por estudos no campo (Barker et al., 1992; Barreto, Smith & Sleigh, 1990; Bell, 1963; Kagan, 1955; Kanamura et al., 1979). Na Figura 1 é demonstrado o efeito do aumento do número de amostras de fezes examinadas na sensibilidade do método de Kato-Katz, com diferentes cargas parasitárias.

Figura 1 – Efeito do aumento do número de amostras de fezes examinadas na sensibilidade do método de Kato-Katz*

* Em diferentes cargas parasitárias o aumento do número de amostras de fezes é principalmente observado em indivíduos eliminando menos de cem ovos por grama de fezes.

Fonte: Rabello (1990).

Biópsia da Mucosa Retal

A biópsia da mucosa retal constitui um procedimento invasivo, em que se retira, por retoscopia e biópsia, um fragmento de mucosa retal, para exame microscópico e verificação da presença de ovos. O método foi descrito por Ottolina & Atêncio, em 1943. Cançado et al., em 1965, introduziram o oograma quantitativo, método ainda usado para avaliações de atividade de drogas, que permite a classificação dos ovos (imaturos, maduros, mortos) e a demonstração rápida de modificações da oviposição.

Quando a escolha do método de diagnóstico da esquistossomose objetiva a avaliação individual de pacientes, a demonstração dos ovos do parasito em fragmentos de mucosa retal é, algumas vezes, considerada. A respeito desta técnica vale enfatizar:

- se padronizado o critério de positividade como presença de ovos viáveis no tecido retal, e se garantida a qualidade técnica do examinador das amostras fecais e do oograma, dois exames de fezes pelo método Kato-Katz apresentam a mesma sensibilidade que o oograma obtido via biópsia retal;
- devido à significativa e positiva correlação entre o número de ovos observado no tecido retal e nas fezes, a concordância entre os dois métodos é de 100% quando o paciente apresenta mais de 200 ovos por grama de fezes e mais do que dois mil ovos por grama de mucosa retal. As discordâncias são observadas nas infecções menos intensas (Rabello, 1990);
- atualmente, a indicação da biópsia retal para o diagnóstico da esquistossomose mansoni restringe-se ao ensaio de drogas, pela demonstração precoce de modificações no oograma retal.

A dependência de pessoal treinado e o desconforto para o paciente limitam este método ao uso antes descrito.

Para o diagnóstico individual a escolha de procedimentos de detecção mais sensíveis pode trazer vantagens, apesar de serem de execução mais trabalhosa. Como os sinais e sintomas de uma infecção por *S. mansoni* não são específicos, métodos que detectam ovos de outros helmintos e também cistos e trofozoítos de protozoários intestinais podem estar indicados. Técnicas que preenchem estes requisitos e que são usadas no dia-a-dia dos laboratórios incluem os métodos de Lutz/HPJ e o de formol-éter, mencionados anteriormente.

DIAGNÓSTICO IMUNOLÓGICO

Aspectos Gerais

Existe uma ampla variedade de testes imunológicos; entretanto, eles apresentam valor limitado no diagnóstico da esquistossomose. Os métodos disponíveis apresentam reações cruzadas com outras helmintoses, não detectam a intensidade da infecção, não diferenciam infecção passada e recente e podem permanecer positivos durante anos após a cura quimioterápica (Smithers & Doenhoff, 1982; Mott & Dixon, 1982; Montenegro, 1992). Portanto, até o momento, não parece existir nenhuma técnica imunodiagnóstica com as características ideais, que são: efetividade, utilização de poucos reagentes, baixo custo, uso de equipamentos simples, rapidez na execução e facilidade de realização no campo (Rabello, 1997). De modo geral, grande número de estudos relacionados à utilização de métodos imunológicos de detecção da reação

antígeno/anticorpo para o diagnóstico da esquistossomose consiste em demonstração prática, não sendo os métodos usados de modo efetivo. Esses métodos imunológicos permanecem na etapa de pesquisa laboratorial, sendo experimentalmente utilizados para o estudo da relação hospedeiro/parasito.

A maior parte dos métodos sorológicos descritos para o diagnóstico da esquistossomose são indiretos e se aplicam à detecção de anticorpos. A positividade em um desses métodos não define a presença de infecção esquistossomótica ativa, pois somente indica resposta do sistema imune do hospedeiro a determinados antígenos parasitários. Devido às limitações dos métodos parasitológicos mencionados anteriormente, vários autores (Rey, 2001; Coelho & Tavares, 1991) salientam que os métodos imunológicos são justificados em algumas situações, como áreas endêmicas de baixa intensidade de infecção (estimada pelo número de ovos nas fezes), onde é baixa a eficiência dos exames parasitológicos. Os testes imunológicos têm sido usados principalmente como métodos auxiliares em levantamentos epidemiológicos e para o controle de cura (Bergquist, 1992).

A elevada sensibilidade dos métodos de detecção de anticorpos estimula seu uso para o diagnóstico da esquistossomose e isso se aplica não somente a pessoas que vivem em áreas endêmicas, mas principalmente a turistas que retornam infectados para seus países, não endêmicos para a esquistossomose (Doenhoff, Chiodini & Hamilton, 2004). Devido à persistência de anticorpos após o tratamento específico da infecção, os métodos de detecção de anticorpos são inadequados para o monitoramento de cura quimioterápica (Bergquist, 1992).

Técnicas Utilizadas

Os ensaios imunológicos podem detectar anticorpos produzidos pelo homem contra o parasito (métodos indiretos) ou antígenos liberados de diversos estágios do parasito e que se encontram na corrente sanguínea do hospedeiro (métodos diretos) (Bergquist, 1992).

Quadro 3 – Classificação das técnicas imunológicas utilizadas para o diagnóstico da esquistossomose

Métodos	Técnicas imunológicas
Direto Detecção de antígenos do parasito	Técnica Imunoenzimática (Elisa) de captura
Indiretos Detecção de resposta imune do hospedeiro	Reação intradérmica
	Reação pericercariana
	Teste de aglutinação cercariana
	Reação de imobilização do miracídio
	Reação de hemaglutinação indireta
	Reação de fixação de complemento
	Reação periovular ou circum-ovular
	Reação de imunofluorescência indireta
	Radioimunoensaio
	Técnica imunoenzimática (Elisa)

Fonte: adaptado de Coelho & Tavares (1991).

Reação Intradérmica

A reação intradérmica, que é baseada na reação de hipersensibilidade imediata do tipo I ou anafilática, torna-se positiva quatro a oito semanas após a infecção. A leitura do teste é feita 15-20 min após a inoculação do antígeno e o teste é positivo quando ocorre pápula de diâmetro superior a 1 cm (ou área superior a 1,2 cm^2) (Rey, 2001). Uma variedade de antígenos, de diferentes estágios do ciclo de vida de *S. mansoni*, tem sido usada, mas em geral os extratos de vermes adultos propiciam reações mais sensíveis do que os de cercárias e ovos. Essa reação apresenta sensibilidade de 95% em indivíduos do sexo masculino maiores de vinte anos e de 65% em crianças e jovens do sexo feminino. Reações cruzadas podem ocorrer em pacientes infectados com *Fasciola hepatica* ou outros trematódeos e em portadores de dermatites (Coelho & Tavares, 1991). Outra limitação dessa técnica é a persistência de positividade após o tratamento e a possibilidade de sensibilização de pacientes com resposta inicial negativa, que passam a apresentar resposta falso-positiva (Rey, 2001; Coelho & Tavares, 1991). Em síntese, a técnica oferece baixas sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da infecção esquistossomótica em atividade, e seu uso deve ser desencorajado (Bergquist, 1992).

Diagnóstico Sorológico: detecção de anticorpos

Técnicas em Desuso

Algumas técnicas sorológicas também estão em desuso, como a reação pericercariana, a reação de aglutinação cercariana, a reação de imobilização do miracídio, a reação de hemaglutinação indireta e a reação de fixação de complemento, comentadas a seguir, por constituírem curiosidade científica ou por sua importância histórica.

Vogel & Minning (1949) descreveram a reação pericercariana, observando que, ao se colocar em contato cercárias de *S. mansoni* ou *S. japonicum* e soro de macacos infectados com *S. mansoni*, formava-se uma membrana transparente em torno das cercárias. Esse efeito foi chamado de *cercarien-hullen reaction* ou reação do envelope cercariano e serviu como base para a aplicação do método ao diagnóstico da esquistossomose. Essa reação torna-se positiva a partir da quarta semana, antes do aparecimento dos ovos nas fezes. No entanto, a técnica apresenta limitações de ordem prática, uma vez que necessita de cercárias vivas (Coelho & Tavares, 1991).

Em 1950, Liu & Bang observaram que soros inativados de macacos infectados com *S. mansoni* tinham a propriedade de aglutinar cercárias vivas. Esse fenômeno de aglutinação cercariana condicionava-se à existência de um meio desfavorável às cercárias, ocorrendo quando o soro era diluído com salina, resultando em perda de motilidade das cercárias. A positividade desse teste coincide com a época do surgimento de ovos do parasito nas fezes do paciente. A sensibilidade na fase aguda da doença é de 100%, entretanto, na fase crônica, cai para 6,1% (Coelho & Tavares, 1991). As limitações dessa técnica envolvem sua baixa sensibilidade na fase crônica da doença e a necessidade de cercárias vivas.

A reação de imobilização do miracídio foi descrita em 1953, por Senterfit, que observou paralisia do movimento ciliar do miracídio quando em contato com soro humano imune inativado. Essa técnica tem baixa sensibilidade e a obtenção dos miracídios é bastante complexa (Coelho & Tavares, 1991).

A reação de hemaglutinação indireta foi descrita para o diagnóstico da esquistossomose por Kagan (1955) e consiste na aglutinação de hemácias de carneiro adsorvidas com antígenos de *S. mansoni* quando em contato com soro imune. Essa reação apresenta sensibilidade entre 17% e 93% e especificidade de 88% (Coelho & Tavares, 1991).

Na reação de fixação de complemento, os anticorpos estão presentes desde a terceira semana de parasitismo, antes mesmo que surjam os ovos de *S. mansoni* nas fezes do paciente. Portanto, esse teste permite a detecção da infecção antes que os vermes adultos atinjam a maturidade e produzam ovos (Minning, 1941). A realização da técnica é considerada complexa e requer pessoal técnico especializado. Além disso, existem dificuldades para sua utilização no campo, pois exige a execução imediata do teste após a coleta do sangue, para que não ocorra o desenvolvimento de anticorpos contra o complemento, fazendo com que o teste perca a sua eficiência. Nos casos crônicos com mais de dez anos de evolução, essa reação apresenta menor sensibilidade (Rey, 2001).

Reação Periovular

A reação periovular foi descrita por Oliver-Gonzalez, em 1954. Trata-se da formação de precipitado hialino com forma globosa ou alongada que ocorre em torno de ovos de *S. mansoni* quando incubados a 37ºC com soro inativado de pacientes infectados. A reação foi denominada pelos autores *circumoval precipitin test* (Copt), é visualizada após duas horas de incubação, é espécie-específica, isto é, não há reação cruzada com o soro de indivíduos infectados com espécies diferentes de *Schistosoma*, e apresenta sensibilidade de 80%-100%, sendo maior na fase crônica do que na fase aguda (Mott & Dixon, 1982; Montenegro, 1992). Suas principais limitações decorrem da dificuldade de padronização dos ovos, da ausência de quantificação e da subjetividade da interpretação visual da reação. Na Venezuela, a reação periovular apresenta sensibilidade de 92% a 100% e especificidade de 96% a 100%, sendo utilizada como padrão-ouro em áreas de baixa transmissão, recomendada como teste confirmatório devido ao fato de ser de realização complexa (Noya et al., 2002). Hillyer & Rivera-Marrero (1982) demonstraram que há um componente antigênico principal responsável pela reação periovular, denominado antígeno MSA1.

Reação de Imunofluorescência Indireta

Na reação de imunofluorescência indireta, o princípio é a ligação de imunoglobulinas na superfície das formas evolutivas parasitárias e na ligação posterior de antiimunoglobulinas humanas marcadas com fluoresceína (Sadun, Williams & Anderson, 1960), visualizando-se a fluorescência em microscópio apropriado. Esse método apresenta sensibilidade equivalente à fixação de complemento, mas é menos específico (Coelho & Tavares, 1991). A necessidade de microscópio de fluorescência limita a utilização do método em áreas endêmicas com pouca infra-estrutura.

Radioimunoensaio

O teste de radioimunoensaio (RIE) utiliza o I^{125}, tem o mesmo princípio da imunofluorescência e dos testes imunoenzimáticos, mas apresenta desvantagens pelo, uso de material radioativo, de aparelhos especializados e por, seu custo operacional ser muito alto. Neste teste, o antígeno MSA1, uma glicoproteína de peso molecular de 137 kDa, mostrou-se altamente específico para o diagnóstico da esquistossomose mansoni (Stek et al., 1985).

Elisa

Atualmente a técnica mais utilizada, o método imunoenzimático *enzyme linked imunosorbent assay* (Elisa), foi introduzido em 1971 por um grupo sueco (Engvall, Jonsson & Perlmann, 1971) e outro holandês (Van Weemen & Schuurs, 1971). A técnica utiliza enzimas ligadas a antígenos ou anticorpos para detecção de anticorpos ou antígenos, respectivamente. Sua adaptação para o uso em placas de microtitulação foi descrita por Voller, Bartlett & Bidwell (1976) e possibilitou seu uso com menores volumes de reagentes, mais estáveis e mais econômicos.

Algumas derivações surgiram a partir do Elisa, como o dot-Elisa (Pappas, Hajkowski & Hockmeyer, 1983) e o dot-DIA (*dot dye immunoassay*) (Snowden & Hommel, 1991; Rabello et al., 1992), e outros estudos desenvolveram diferentes suportes para a realização da técnica (Montenegro et al., 1999; Coelho et al., 2002).

Uma das dificuldades iniciais no desenvolvimento de testes sorológicos é a escolha dos antígenos apropriados. Existem diversas dificuldades que influenciam a escolha de um antígeno ideal, como: produtividade e facilidade de obtenção, elevada estabilidade em condições simples de estocagem, capacidade antigênica, especificidade e compatibilidade com técnicas sorológicas baratas e simples. Os antígenos podem ser obtidos de diversos estágios evolutivos de *S. mansoni*, podendo ser proteínas, polissacarídeos e enzimas. Os mais usados são os extratos brutos, preparados mediante ruptura de vermes, larvas ou ovos. O antígeno solúvel de vermes adultos de *S. mansoni*, *soluble worm adult protein* (Swap) é a fonte mais fácil e abundante de material antigênico (Doenhoff, Chiodini & Hamilton, 2004). O homogeneizado de ovos de *Schistosoma*, conhecido como antígeno solúvel de ovo (*soluble egg antigen* – SEA), contém grande número de frações antigênicas, apesar de somente a minoria desses constituintes serem liberados por ovos viáveis, como demonstrado por Ashton et al. (2001). Estas observações sugerem que a reação antígeno-anticorpo depende de número limitado de antígenos incluídos no SEA. Portanto, o uso de preparações de antígenos purificados é uma possibilidade, uma vez que soros de pacientes infectados reagem principalmente com as frações antigênicas 30 kDa, denominado ω-1; 36-41 kDa, chamado α-1, e a fração > 90 kDa, conhecida também como k-5. Os antígenos ω-1 e α-1 constituem a fração do antígeno CEF6 (*cathionic egg fraction* 6), os quais podem ser purificados com utilização do método de cromatografia (Dunne et al., 1984). Antígenos de cercárias são menos freqüentemente empregados por causa de sua baixa sensibilidade e especificidade, quando comparados aos antígenos de verme adulto e ovos (Lunde & Ottensen, 1980). Uma modificação no preparo de antígenos de ovos para uso em Elisa foi relatada por Alarcon de Noya et al. (2000) que, pela eliminação de carboidratos, obtiveram especificidade de 97%.

Como já mencionado, um dos grandes problemas da pesquisa de anticorpos é a ocorrência de reações cruzadas, principalmente observadas com o uso de antígenos brutos, que contêm frações antigênicas compartilhadas com diversos parasitos, como também com alguns protozoários e bactérias. Por essa razão, na década de 1980, as pesquisas concentraram-se em identificar preparações de antígenos imunoquimicamente purificados, que induzissem a formação de anticorpos mais específicos do que os existentes, utilizando diversas técnicas imunológicas, principalmente Elisa. São exemplos de antígenos mais estudados o *major serological antigen* (MSA), sobretudo o MSA1 de 137 kDa e o antígeno CEF6, que são frações antigênicas de ovos, e os antígenos *adult microsomal antigen* (Mama) e 31/32 kDa (associados ao intestino), que são antígenos de vermes adultos. Um antígeno larval de 37 kDa, de *S. mansoni*, tem atraído interesse dos pesquisadores, devido ao seu uso como marcador de susceptibilidade à infecção (Wu, 2002).

Outro inconveniente do imunodiagnóstico por detecção de anticorpos é a persistência de resposta humoral após a cura quimioterápica. O antígeno purificado CEF6 parece constituir uma alternativa, produzindo redução dos níveis de anticorpos após seis meses de tratamento quimioterápico (Mott & Dixon, 1982; Doenhoff, Chiodini & Hamilton, 2004).

O desenvolvimento da tecnologia, coincidindo com os avanços da biologia molecular nas últimas décadas, proporcionou a produção de antígenos recombinantes e peptídeos sintéticos que parecem oferecer uma perspectiva de identificação de epítopos específicos de infecção ativa, diminuindo também a ocorrência de reações cruzadas. Recentemente, um sistema de expressão bacteriana tem sido usado para produzir uma forma recombinante de um fator de interleucina-4 (IL-4), indutor de ovos de *S. mansoni* (Ipse), que leva os basófilos a degranularem durante cultura *in vitro*. O Ipse parece ser o mesmo antígeno α-1 do CEF6 e o potencial desse antígeno no diagnóstico da esquistossomose está em estudo (Schramm et al., 2003). No entanto, existem algumas dificuldades no uso desse sistema de expressão bacteriana na produção de antígenos recombinantes porque não serão glicosilados e não estarão na sua conformação nativa. Além disto, a especificidade poderá estar comprometida, se esses antígenos recombinantes não puderem ser separados de outros constituintes de células bacterianas, para os quais os pacientes já podem ter anticorpos. Para tentar resolver esses problemas, é possível utilizar células de linhagem eucarióticas ou síntese enzimática para produzir glicoconjugados, combinações de tampões para facilitar a configuração nativa da proteína e a expressão de proteínas marcadas com histidina, o que facilita a purificação (Doenhoff, Chiodini & Hamilton, 2004).

Detecção de Antígenos Circulantes

A existência de antígenos circulantes de *Schistosoma* sp. foi descrita por Okabe & Tanaka (1958). Os métodos para detectá-los geralmente envolvem captura do antígeno por intermédio do Elisa tipo 'sanduíche', utilizando anticorpos dirigidos a epítopos repetitivos. No entanto, as técnicas passaram a oferecer maior sensibilidade quando a produção de anticorpos monoclonais favoreceu o processo de captura.

A presença de antígenos parasitários circulantes, que se correlaciona diretamente com o número de vermes vivos na corrente sanguínea de indivíduos infectados por *S. mansoni*, permite adequada diferenciação entre infecção passada e infecção presente (Bergquist, 1992), levando à evidência direta de infecção ativa (Doenhoff, Chiodini & Hamilton, 2004). A elevada especificidade da detecção de antígenos circulantes, pela ausência de reações cruzadas com outros parasitos e pelo desaparecimento rápido após o tratamento específico, constitui a principal vantagem deste método. Realmente, uma redução de 90% nos níveis de antígenos de intestino de vermes adultos circulantes no soro foi observada dez dias após o tratamento eficaz da infecção (De Jonge et al., 1989) ou deixaram de ser detectados seis semanas após o tratamento (Van Lieshout et al., 1991). Além disto, os níveis de antígenos circulantes geralmente se correlacionam com a intensidade da infecção e o número de ovos excretados (Polman et al., 2001).

A principal desvantagem do método, entretanto, é que ele não oferece maior sensibilidade do que o exame de fezes, em situações de baixa prevalência prevalência e de baixa carga parasitária. Por exemplo, em populações do Burundi e do Zaire, sensibilidades de 59,6% e 66,7% foram observadas nas pessoas com menos do que cem ovos por grama de fezes (De Jonge et al., 1988). Como parte de estudo multicêntrico incluindo áreas endêmicas de Minas Gerais, demonstrou-se não haver diferença significativa, em 116 pessoas, na positividade de um (46,6%), dois (52,6%) ou três (59,5%) exames de fezes e na detecção de

antígeno circulante anódico no sangue (54,3%), e que casos discrepantes são predominantemente observados em pacientes com baixa eliminação de ovos nas fezes e níveis baixos de antígenos circulantes (dados não publicados).

Diversas técnicas de detecção de antígenos circulantes foram descritas nas últimas três décadas (Ripert et al., 1988; Li et al., 1994; Cesari et al., 1998; Hassan et al., 1999); no entanto, dois antígenos têm sido mais investigados, o *circulating anodic antigen* (CAA), que é um antígeno de 70 kDa, composto por glicoproteínas presentes no intestino do verme adulto, e o *circulating catodic antigen* (CCA), polissacarídeo conhecido como 'antígeno M' e também presente no intestino do verme adulto. Esses antígenos circulantes, CCA e CAA, têm sido encontrados no soro e na urina de pacientes e animais infectados por *S. mansoni* (Disch et al., 1997; Polman et al., 1998). Alguns autores têm mostrado que o CCA é mais abundante na urina do que o CAA, porque o antígeno CCA apresenta maior filtração renal, devido ao seu tamanho e a sua polaridade, fazendo com que ele seja o candidato mais adequado para a detecção de antígenos na urina de pacientes. Estudo realizado por Disch et al. (1997) mostra que há menor variação diária de quantidades de CCA eliminadas na urina do que na eliminação diária de ovos nas fezes. Portanto, para estudos epidemiológicos, a detecção do antígeno CCA na urina através de Elisa parece ser um instrumento adequado e uma alternativa para os testes diagnósticos sorológicos. O antígeno CCA é mais freqüentemente encontrado em pacientes com a forma crônica hepatoesplênica (100%) do que intestinal crônica (72%), mas somente 52% dos pacientes com a forma clínica aguda apresentavam níveis detectáveis deste antígeno (Silva et al., 1999). A detecção de antígenos circulantes não é espécie-específica, devido à presença compartilhada de antígenos entre as diversas espécies de *Schistosoma.*

Diagnóstico da Forma Neurológica da Esquistossomose

A mielorradiculopatia esquistossomótica é a forma ectópica mais grave e incapacitante da infecção por *S. mansoni*. Seu diagnóstico baseia-se na presença de sintomas neurológicos decorrentes de lesões da medula espinhal torácica baixa e/ou lombar, pela demonstração da infecção esquistossomótica por técnicas microscópicas ou sorológicas e na exclusão de outras causas de mielite transversa (Silva et al., 2004).

A detecção de anticorpos anti-*Schistosoma* utilizando-se as técnicas de Elisa e/ou imunofluorescência indireta tem sido utilizada para auxiliar o diagnóstico. A positividade da sorologia para *Schistosoma* no líquido cefalorraquidiano é questionada, devido à falta de uniformidade na padronização do método, à inexistência de estudo que comprove sua acurácia e à possibilidade de que a sorologia liquórica positiva possa representar apenas exposição prévia ou infecção extramedular, uma vez que há quebra da barreira hematoencefálica em conseqüência do processo inflamatório (Silva et al., 2004).

Diagnóstico da Forma Aguda da Esquistossomose

O diagnóstico da forma aguda toxêmica da esquistossomose mansoni apresenta algumas peculiaridades e muitas vezes constitui um desafio para os médicos, já que pacientes com infecção crônica, provenientes de áreas endêmicas, podem apresentar hepatoesplenomegalia febril concomitante, quadro clínico semelhante ao da esquistossomose aguda. Complementando o exame clínico, a ultra-sonografia abdominal tem demonstrado ser útil na definição do quadro, sendo observados aumento inespecífico do fígado e do baço, além da presença de linfadenomegalia peripancreática e periportal (Lambertucci et al., 1994; Rabello et al., 1994).

Até recentemente, o diagnóstico da forma aguda baseava-se em características epidemiológicas e clínicas, presença de ovos do parasito nas fezes e eosinofilia. A biópsia hepática que apresenta principalmente granulomas, na fase necrótico-exsudativa, e degeneração de hepatócitos consiste no diagnóstico definitivo da forma aguda da esquistossomose, mas está, atualmente, raramente indicada, devido às opções não invasivas de diagnóstico.

Kanamura et al. (1979, 1991) observaram na fase aguda, por imunofluorescência indireta, resposta elevada de anticorpos IgA contra antígenos de ovo, em secções de granulomas de fígado de camundongos infectados, e contra antígenos de intestino de vermes adultos, em secções de verme parafinado. Níveis elevados de IgA1 contra antígenos de verme adulto e de ovos de *S. mansoni* foram demonstrados em pequeno número de pacientes recém-infectados (Evengard et al., 1990).

Um marco na caracterização da resposta imune humoral (nesse caso, não se deve aglutinar) na esquistossomose mansoni refere-se à distinção das fases aguda e crônica da doença a partir da detecção de anticorpos séricos IgG e IgM reativos à hemocianina do molusco marinho *Megathura crenulata*, conhecida como *Keyhole Limpet Hemocyanin* (KLH) e produzida em escala industrial. Mansour et al. (1989) elegeram tal antígeno para estudo, em função da presença de um epítopo comum entre a hemocianina e o esquistossômulo. Tal escolha baseou-se na caracterização de um antígeno de aproximadamente 200 kDa como principal alvo dos anticorpos anticarboidrato na superfície dos esquistossômulos, com resposta exuberante em indivíduos com a fase aguda da esquistossomose e discreta em indivíduos com a fase crônica da doença (Grzych et al., 1987). A pesquisa de anticorpos séricos IgG e IgM anti-KLH através de Elisa possibilitou a distinção entre as fases aguda e crônica da esquistossomose. Alves-Brito et al., em 1992, confirmaram tais achados e demonstraram a baixa resposta IgG ao KLH em indivíduos com esquistossomose mansoni crônica, portadores de outras doenças infecciosas ou não infectados.

Rabello et al. (1995) definiram o diagnóstico imunológico da fase aguda da esquistossomose em um grupo de 18 indivíduos simultaneamente infectados por *S. mansoni*, a partir da detecção de níveis elevados de anticorpos séricos IgG e IgM anti-KLH e anticorpos IgA anti-SEA. Níveis elevados destes anticorpos e de anticorpos IgM anti-SEA correlacionaram-se positivamente com a morbidade da doença, após ajustamento por idade e intensidade do contato com água. O acompanhamento desta população revelou queda significativa dos níveis dos anticorpos IgA anti-SEA e IgM anti-KLH dois meses após o tratamento. Em relação aos anticorpos IgG anti-KLH, foi constatado declínio nos níveis séricos 12 a 24 meses após o tratamento, enquanto os níveis séricos dos anticorpos IgG e IgM anti-SEA mantiveram-se inalterados (Rabello, 1997).

A diferenciação sorológica das fases aguda e crônica da esquistossomose empregando-se Elisa, IgG e IgM anti-KLH foi igualmente demonstrada em relação à infecção por *S. japonicum* (Yuesheng et al., 1994; Liping et al., 1996).

A avidez dos anticorpos IgA, IgM, IgG e sub-classes de IgG de se ligarem ao antígeno solúvel de ovo foi determinada por Gouveia, Rabello & Katz (2001), que observaram predominância de baixa avidez de ligação dos anticorpos IgG, IgG1, IgG2, IgG3 e IgA na fase aguda da esquistossomose, enquanto a imunoglobulina IgG1 mostrou a maior correlação com a evolução cronológica da infecção, apresentando 100% de baixa avidez durante a infecção aguda e alcançando 100% de alta avidez após seis meses.

DIAGNÓSTICO MOLECULAR

Detectando o DNA do Parasito pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A reação em cadeia da polimerase (PCR), atualmente uma das técnicas mais destacadas da ciência biomédica, surgiu em meados da década de 1980 (Saiki et al., 1985) como uma revolução no campo da biologia molecular e rapidamente se tornou uma das ferramentas mais utilizadas para o diagnóstico de doenças infecciosas. O método permite a amplificação de seqüências de DNA ou RNA do agente infeccioso, copiando-as em larga escala e de maneira específica. A sua importância se faz sentir principalmente em infecções leves, nas quais um método extremamente sensível é necessário para um diagnóstico acurado.

Na década de 1990, o número de publicações descrevendo métodos diagnósticos para doenças infecciosas utilizando a PCR cresceu vertiginosamente, tendo surgido inúmeros ensaios para a detecção de enfermidades tropicais como a malária (Barker et al., 1992; Snounou et al., 1993) e a leishmaniose (Lopez et al., 1993; Piarroux et al., 1993). Embora alguns ensaios moleculares já tivessem sido desenvolvidos para detecção dos parasitos do gênero *Schistosoma* em águas infestadas e nos hospedeiros intermediários, o uso da PCR para o diagnóstico da esquistossomose só seria descrito uma década depois.

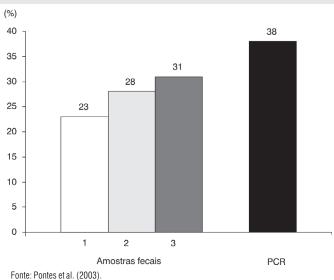
O único ensaio de PCR atualmente disponível para o diagnóstico da esquistossomose mansoni (Pontes, Dias Neto & Rabello, 2002; Pontes et al., 2003) se baseia na amplificação de uma seqüência de DNA altamente repetitiva encontrada no genoma do parasito e descrita por Hamburger et al., em 1991. Esta seqüência é extremamente abundante, correspondendo a cerca de 10% de todo o material genético de *S. mansoni* (seiscentas mil cópias/genoma haplóide), sendo encontrada em ambos os sexos do parasito.

A sensibilidade da técnica para a detecção desta seqüência de *S. mansoni* se mostrou bastante satisfatória, sendo o limite de detecção do DNA isolado de ovos de apenas um fentograma (10^{-15}g), o que corresponde à fração de 0,002 do parasito. O ensaio foi dez vezes mais sensível que o exame parasitológico de Kato-Katz e na validação do teste em área endêmica foi capaz de detectar 16 casos positivos não detectados pelo exame parasitológico, o que representa 8% a mais no número de pessoas corretamente diagnosticadas. Um único ensaio de PCR revelou prevalência de infecção de 38%, contra 31% estimado por três exames parasitológicos (Gráfico 1). Também na avaliação da eficácia do tratamento (controle de cura) a PCR se mostrou mais precisa. Apesar da diferença no número de casos detectados, o índice estatístico de Kappa entre os dois métodos foi bastante alto (0,8), indicando boa concordância entre eles. Esta é uma situação bastante diferente da normalmente encontrada em comparações entre o exame parasitológico e técnicas baseadas na detecção em que o índice de Kappa pode assumir valores muitos baixos (0,088-0,166) (Kanamura et al., 2002). Além de mais sensível, a PCR se mostrou também bastante específica, não amplificando DNA de outros helmintos analisados e apresentando desempenho satisfatório no estudo realizado em área endêmica.

As desvantagens associadas ao uso da PCR para o diagnóstico da esquistossomose são semelhantes às encontradas em relação a outras doenças. Em termos técnicos, os dois principais problemas, que devem ser motivo de cautela e justificam ações específicas, são a possibilidade de inibição da enzima e o risco de contaminação das amostras analisadas. O problema da inibição pode ser abordado pela diluição do DNA extraído, o que também dilui os inibidores, ou pelo uso de controles internos. Os controles são seqüências que devem ser sempre amplificadas na reação, independente da seqüência específica do parasito, que só deve ser detectável nos indivíduos infectados. A ocorrência de contaminação por DNA amplificado pode ser

minimizada pelo uso de ambientes, equipamentos e reagentes exclusivos para a realização de cada uma das principais etapas envolvidas. Assim, recomenda-se um ambiente para extração de DNA, outro para a mistura dos reagentes de amplificação e outro para a amplificação (termociclador), a corrida de gel e a visualização das bandas. Além disso, a ocorrência de contaminação deve ser monitorada pela inclusão de, pelo menos, dois controles negativos (não contendo DNA extraído) por cada reação de amplificação.

Gráfico 1 – Prevalências de infecção por *S. mansoni* estimadas por um, dois ou três exames de fezes pelo método de Kato-Katz e por um exame de PCR

Fonte: Pontes et al. (2003).

VALIDADE TÉCNICA E APLICABILIDADE

No Quadro 4 são ilustradas as quatro categorias possíveis de classificação de doença por um método diagnóstico e sua relação com a situação verdadeira e suas inter-relações.

Quadro 4 – Quatro categorias possíveis de classificação de doença por um método diagnóstico e sua relação com a situação verdadeira e suas inter-relações*

		Teste	
		Positivo	Negativo
Doença	Presente	a	b
	Ausente	c	d

Sensibilidade: $\frac{a}{a+b}$

Especificidade: $\frac{d}{c+d}$

Valor Preditivo Positivo: $\frac{a}{a+c}$

Valor Preditivo Negativo: $\frac{d}{b+d}$

Eficiência do teste: $\frac{a+d}{a+b+c+d}$

* Sensibilidade: capacidade de uma determinada técnica em detectar indivíduos verdadeiramente doentes (a / a + b).
Especificidade: capacidade de um teste de apresentar resultados negativos na ausência de doença e de não apresentar resultados falsamente positivos (d / c + d).
Valor preditivo positivo: proporção dos resultados com teste positivo, que identificam verdadeiramente a presença da doença, em relação a todos os testes positivos (a / a + c).
Valor preditivo negativo: proporção dos resultados com teste negativo, que identificam verdadeiramente a ausência da doença, em relação a todos os testes negativos (b / b + d).
Eficácia: capacidade do teste de classificar corretamente o maior número de indivíduos avaliados entre verdadeiramente doentes e saudáveis (a + d / a + b + c + d).

As inter-relações descritas no Quadro 4 dependem exclusivamente de características do teste. Os valores preditivos incorporam em sua definição o aspecto prevalência da doença em determinada população.

Mantendo-se as características de sensibilidade e especificidade do teste, a probabilidade de um indivíduo que apresente o teste positivo ser realmente doente (valor preditivo do resultado positivo) depende da especificidade do teste e da prevalência da doença na população à qual o indivíduo pertence. Já a probabilidade de um indivíduo que apresente teste negativo esteja verdadeiramente são depende da sensibilidade do teste e da prevalência da doença na população.

O exemplo do Quadro 5 ilustra como os valores preditivos são dependentes da situação onde é realizado determinado teste diagnóstico.

Quadro 5 – Valores preditivos de um teste diagnóstico hipotético

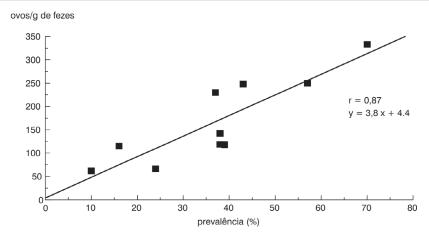
Teste hipotético
Sensibilidade: 90%
Especificidade: 90%

Prevalência: 20% Prevalência: 50%
Valor Preditivo Positivo: 69,2% Valor Preditivo Positivo: 90,0%
Valor Preditivo Negativo: 97,3% Valor Preditivo Negativo: 90,0%

Diante disso, pode-se dizer que quanto maior a prevalência, maior a probabilidade de um resultado positivo pertencer a um doente e menor a probabilidade de um resultado negativo pertencer realmente a um indivíduo sadio.

O exame de fezes para o diagnóstico de parasitoses como a esquistossomose apresenta dois aspectos especiais que precisam ser considerados quando avaliados sua sensibilidade e seus valores preditivos. Primeiro, a não ser por troca de resultados (erro virtual), a especificidade do teste é 100%. Ao se visualizar o ovo de *S. mansoni* nas fezes, não existe possibilidade de se tratar de um paciente falso-positivo. Segundo, como mencionado anteriormente, a sensibilidade do método aumenta com o aumento da intensidade de infecção.

No Gráfico 2 são apresentadas a relação linear entre prevalência e intensidade de infecção na experiência de dez áreas endêmicas de Minas Gerais, avaliadas pelo Laboratório de Esquistossomose do Centro de Pesquisa René Rachou/Fiocruz.

Gráfico 2 – Regressão linear entre valores de prevalência e média geométrica do número de ovos por grama de fezes em dez áreas endêmicas avaliadas pelo Laboratório de Esquistossomose, Centro de Pesquisa René Rachou/Fiocruz

Assim, para uma área endêmica com prevalência de 20%, espera-se o encontro de média geométrica de setenta ovos por grama de fezes e sensibilidade do exame de uma amostra fecal em torno de 70%. Já para área endêmica de 50%, espera-se média geométrica do número de ovos de duzentos ovos por grama de fezes e sensibilidade de 90%. Vêem-se no Quadro 6 as conseqüências desta variação, em dados hipotéticos.

Quadro 6 – Indicadores epidemiológicos do método de Kato-Katz em duas localidades hipotéticas

Método de Kato-Katz

Diagnóstico de Esquistossomose

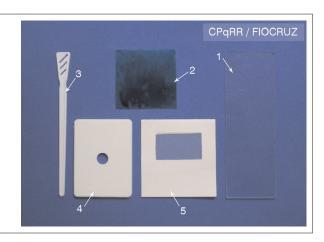
Prevalência: 20% Prevalência: 50%
Intensidade de Infecção: 70 opg Intensidade de Infecção: 200 opg

Sensibilidade: 80% Sensibilidade: 90%
Especificidade: 100% Especificidade: 100%

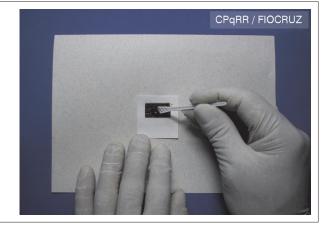
Valor Preditivo Positivo: 100% Valor Preditivo Positivo: 100%
Valor Preditivo Negativo: 95,2% Valor Preditivo Negativo: 90%

MÉTODO DE KATO-KATZ: PROCEDIMENTO TÉCNICO

MATERIAL NECESSÁRIO

Lâmina comum de microscopia (1)
Lamínula de celofane permeável e pré-colorida (2)
Espátula (3)
Placa perfurada (4)
Tela com malha de nylon (5)

PROCEDIMENTO

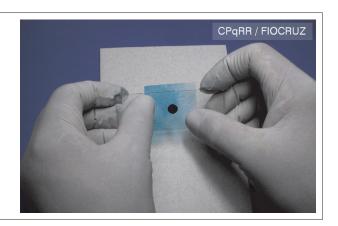
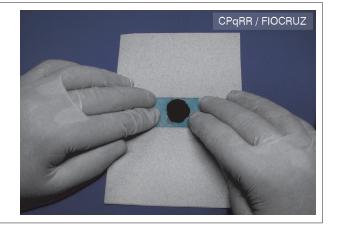
Retirar uma amostra de fezes com auxílio de espátula e colocar sobre um papel absorvente

PROCEDIMENTO (continuação)

Depositar sobre as fezes a tela, comprimindo-a com o auxílio da espátula, o que fará com que parte das fezes passe através das malhas

Recolher as fezes que passarem pela malha com a espátula e preencher o orifício da placa perfurada, que já deverá estar sobre a lâmina de vidro de microscópio

Passar a parte lateral da espátula sobre o orifício da placa para retirar o excesso de fezes. Desprezar espátula e tela com malha

PROCEDIMENTO (continuação)

Retirar a placa perfurada de modo a ficar sobre a lâmina de vidro um cilindro de material fecal. Desprezar a placa perfurada

Colocar sobre o cilindro de fezes a lamínula pré-colorida

Inverter a preparação sobre a superfície lisa e comprimir o cilindro de fezes, de modo que o material se espalhe uniformemente entre a lâmina e a lamínula. Evitar que as fezes extravasem

PROCEDIMENTO (continuação)

Deixar a preparação em repouso por sessenta minutos, em temperatura ambiente, e examinar ao microscópio

Nota: assistência técnica de Áureo Almeida de Oliveira na elaboração deste procedimento.

PERSPECTIVAS

Pelo exposto anteriormente, pode-se perceber a necessidade de estudos comparativos, conduzidos em áreas de diferentes características endêmicas, para melhor definição dos indicadores de eficiência dos métodos diagnósticos disponíveis. Há consenso na literatura de que os métodos parasitológicos são adequados e suficientes para diagnóstico da esquistossomose mansoni em áreas de elevadas prevalência e intensidade de infecção. Estes instrumentos já mostraram sua utilidade operacional em dezenas de países. Mesmo tendo sido descrito há mais de trinta anos, o método de Kato-Katz continua imprescindível.

Os métodos de detecção de anticorpos específicos deixam a desejar em especificidade e carecem de padronização. A primeira e necessária tentativa de se padronizar e avaliar os vários ensaios imunodiagnósticos baseados na determinação de anticorpos séricos está em um estudo clássico de Mott & Dixon, de 1982. Em estudo multicêntrico, os autores avaliaram 17 preparações antigênicas. Os testes de hemoaglutinação indireta, imunofluorescência indireta, Elisa, reação periovular, radioimunoensaios, índio-imunoensaios e microdifusão dupla foram realizados com diferentes antígenos. Os resultados não indicaram superioridade de nenhum dos métodos.

Os confrontos dos dados de prevalência de uma região endêmica obtidos por exame de fezes e determinação de anticorpos geralmente resultam em maior positividade nos resultados do exame sorológico (Polderman, 1975; Hoshino-Shimizu et al., 1986). Existem duas possibilidades de categorias: excesso de falso-positivos por avaliação sorológica ou excesso de falso-negativos por interpretação parasitológica. A inespecificidade da presença de anticorpos contra *S. mansoni* na ausência de infecção ativa se explica por reatividade cruzada com outros parasitos (Corrêa-Oliveira et al., 1988), infecções unissexuais, contatos com outras cercárias, transferência de anticorpos maternos, tratamento prévio ignorado e persistência de anticorpos após a cura. A busca da técnica ideal deverá ultrapassar os estágios de laboratório e os critérios mínimos de validação, indo à demonstração de sua aplicabilidade no campo e de sua superioridade quando comparada ao exame parasitológico de fezes.

As desvantagens do método de pesquisa de antígenos circulantes são a baixa sensibilidade em infecções leves, o custo elevado, operacionalidade difícil e a dependência da produção de anticorpos monoclonais. A técnica, ainda não eficaz para ser utilizada em programas de controle, tem recebido investimentos

como técnica de escolha para futura avaliação de ensaios de proteção. Consiste também em um bom método para estudos como avaliação da relação antigenemia e morbidade.

Outro aspecto extremamente importante a ser discutido diz respeito à aplicabilidade da PCR para o diagnóstico da esquistossomose. Qual a real utilidade de um ensaio de PCR para o diagnóstico da esquistossomose, uma doença intimamente relacionada a condições socioeconômicas precárias e para qual existe um diagnóstico tão simples, barato e eficiente quanto o Kato-Katz?

É impossível saber, de antemão e com certeza, se a PCR encontrará espaço em meio aos métodos de diagnóstico existentes para a esquistossomose. O que se avizinha como claro é que a sofisticação e as grandes exigências infra-estruturais da tecnologia de PCR provavelmente limitarão a sua utilização a algumas situações específicas. Certamente, à medida que o progresso tecnológico caminha, tais limites serão progressivamente diminuídos. Mas o que se pode afirmar hoje é que a PCR, embora muito útil em algumas situações, não é o método diagnóstico de escolha para a maioria das doenças infecciosas. Também não o será, até onde se pode enxergar com clareza, para o diagnóstico da esquistossomose mansoni, em grande parte das situações nas quais um exame faz-se necessário.

Para o controle da esquistossomose em áreas endêmicas e grupos populacionais, a prevalência da infecção, o tamanho populacional, a disponibilidade de infra-estrutura e de recursos humanos e financeiros pesam tanto na escolha do método como suas características intrínsecas (sensibilidade, especificidade etc.). Mais ainda, as técnicas têm sido empregadas em vista da situação epidemiológica e dos objetivos do programa. Assim, métodos simples, como questionários de identificação de sintomas e sinais e o exame de fezes em amostra única podem se mostrar suficientes para o controle da morbidade em área de elevada prevalência. Esta é ainda a situação encontrada na África subsaariana. No outro extremo estão países como Marrocos, Arábia Saudita, Venezuela e regiões do Brasil e China, que atingiram prevalências baixas e estáveis, com controle da morbidade, e buscam a interrupção da transmissão. Nestes países a utilização de um exame mais sensível, como a PCR, poderá representar um meio eficaz de diagnosticar indivíduos com cargas parasitárias abaixo do limite de detecção de outros métodos, indivíduos que acabam se tornando responsáveis pela manutenção da transmissão. O esquema da Figura 2 representa situações hipotéticas nas quais o aumento da exigência e da complexidade das opções diagnósticas pode ocorrer, em decorrência do objetivo do programa, das condições de infra-estrutura e recursos financeiros e da realidade epidemiológica de determinada área endêmica.

Figura 2 – Opções diagnósticas para a esquistossomose mansoni

REFERÊNCIAS

ALARCON DE NOYA, B. et al. *Schistosoma mansoni*: immunodiagnosis is improved by sodium metaperiodate which reduces cross-reactivity due to glycosylated epitopes of soluble egg antigen. *Experimental Parasitology*, 95: 106-112, 2000.

ALVES-BRITO, C. F. et al. Analysis of anti-keyhole limpet hemocyanin antibody in Brazilians supports its use for the diagnosis of acute schistosomiasis mansoni. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 86: 53-56, 1992.

ASHTON, P. D. et al. The schisitosome egg: development and secretions. *Parasitology*, 122: 329-338, 2001.

BARBOSA, F. S. *Morbidade da Esquistossomose. Estudo em Quatro Localidades no Estado de Pernambuco*, 1965. Tese de Doutorado, Recife: Faculdade de Medicina, Universidade do Recife.

BARKER JR., R. H. et al. A simple method to detect *Plasmodium falciparum* directly from blood samples using the polymerase chain reaction. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 46: 416-426, 1992.

BARRETO, M. L.; SMITH, D. H. & SLEIGH, A. C. Implications of faecal egg count variation when using the Kato-Katz method to assess *Schistosoma mansoni* infections. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 84: 554-555, 1990.

BELL, D. R. Anew method for counting *Schistosoma mansoni* eggs in faeces with special reference therapeutical trials. *Bulletin of the World Health Organization*, 29: 525-530, 1963.

BERGQUIST, N. R. Present aspects of immunodiagnosis of schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87: 29-38, 1992.

BLAGG, W. Et al. A new concentration technic for the demonstration of protozoa and helminth eggs in feces. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 4: 23-28, 1955.

BORDET, J. & GENGOU, O. Sur la existence de substances sensibilisatrices dans la plupart des sérums antimicrobies. *Annales de l'Institut Pasteur*, 15: 289-302, 1901.

BOUT, D.; SANTORO, F. & CAPRON, A. Déteccion des immunocomplexes dans la bilharziose. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 5: 631-636, 1975.

BUCK, A. A. et al. Comparative studies of some immunologic screening tests for schistosomiasis in Ethiopia. *American Journal of Hygiene*, 80: 75-84, 1964.

CANÇADO, J. R. et al. Evaluation of the treatment of human *Schistosoma mansoni* infection by the quantitative oogram technique. *Bulletin of the World Health Organization*, 33: 557-566, 1965.

CESARI, I. M. et al. Specificity of the solid phase alkaline phosphatase immunocapture assay for the diagnosis of human *Schistosoma mansoni* infection. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 92: 38-39, 1998.

COELHO, P. M. Z. & TAVARES, C. A. P. Diagnóstico imunológico. In: CASTRO, L. P.; ROCHA, P. R. S. & CUNHA, A. S. (Eds.) *Tópicos em Gastroenterologia*. Rio de Janeiro: Medsi, 1991. v. 2

COÊLHO, R. A. L. et al. Magnetic polysiloxane-polyvinil alcohol composite as solid phase in chemiluminescent assays. *Biotechnology Letters*, 24: 1.705-1.708, 2002.

CORRÊA-OLIVEIRA, R. et al. Human antibody response against schistosomal antigens. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 38: 348-355, 1988.

DE JONGE, N. et al. Detection of circulating anodic antigen by Elisa for seroepidemiology of schistosomiasis mansoni. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 82: 591-594, 1988.

DE JONGE, N. et al. Presence of the schistosome circulating anodic antigen (CAA) in urine of patients with *Schistosoma mansoni* or *S. haematobium* infections. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 41: 563-569, 1989.

DE VLAS, S. J. et al. Validation of a chart to estimate true *Schistosoma mansoni* prevalences from simple egg counts. *Parasitology*, 114: 113-121, 1997.

DISCH, Y. et al. Day to day fluctuation of Cca levels in urine of *Schistosoma mansoni* infected children in Brasil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 91: 222-225, 1997.

DOENHOFF, M. J.; CHIODINI, P. L. & HAMILTON, J. V. Specific and sensitive diagnosis of schistosome infection: can it be done with antibodies? *Trends in Parasitology*, 20(1): 35-39, 2004.

DUNNE, W. D. et al. The stage-, strain- and species-specificity of a *Schistosoma mansoni* eggs antigen fraction (CEF6) with serodiagnostic potencial. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 78: 460-470, 1984.

ENGELS, D. et al. Day-to-day egg count fluctuation in *Schistosoma mansoni* infection and its operational implications. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 57: 571-577, 1997.

ENGVALL, E.; JONSSON, K. & PERLMANN, P. Enzyme-linked immunosorbent assay II. Quantitative assay of protein antigen, immunoglobulin G, by means of enzime-labelled antigen and antibody-coated tubes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 251: 424-434, 1971.

EVENGARD, B. et al. Early antibody responses in human schistosomiasis. *Clinical and Experimental Immunology*, 80: 69-76, 1990.

FAIRLEY, N. H. The discovery of a specific complement fixation test for bilharziasis and its ratical application to clinical medicine. *Journal of the Royal Army Medical Corps*, 32: 449-460, 1919.

FAUST, E. C.; INGALLS, J. W. & SEE, J. K. The diagnosis of schistosomiasis japonicum II. Technics for the recovery of the eggs of *Schistosoma japonicum. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 26: 559-584, 1946.

FAUST, E. C. et al. Comparative efficiency of various techniques for the diagnosis of protozoa and helminthes in feces. *The Journal of Parasitology*, 26: 241-262, 1939.

FUJINAMI, A. & NAKAMURA, H. Experimental studies on the serological eactions in calves experimentally infected with *Schistosoma japonicum*. *Journal of the Kyoto Medical Association*, 6: 224-252, 1909.

GOUVEIA, L.; RABELLO, A. & KATZ, N. Antibody subclass profile andavdity during acute and chronic human *Schistosoma mansoni* infection. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 95: 550-556, 2001.

GRZYCH, J. M. et al. *Schistosoma mansoni* shares a protective carbohydrate epitope with keyhole limpet hemocyanin. *The Journal of Experimental Medicine*, 165: 865-878, 1987.

HAGAN, P. & ABATH, F. G. C. Recent advances in immunity to human schistosomiais. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87: 95-98, 1992.

HAMBURGER, J. et al. Highly repeated short DNA sequences in the genome of *Schistosoma mansoni* recognized by a species-specific probe. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 44: 73-80, 1991.

HASSAN, M. M. et al. Sensitive and specific assay for detecting circulating antigens in individuals infected with *Schistosoma mansoni*. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 29: 49-57, 1999.

HAYAMI, T. & TANAKA, M. Uber die Serumreaktion bei den an der japanischen Schistosomum-Krankheit leidenden Tieren. *Kyoto Igaku Zassi*, 7: 232-238, 1910.

HILLYER, G. V. & RIVERA-MARRERO, C. Circumoval precipitin antigens for the diagnosis of schistosomiasis. II. Isolation of functional antigens. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 31: 785-789, 1982.

HOFFMANN, W. A.; PONS, J. A. & JANER, J. L. Sedimentation concentration method in schistosomiasis mansoni. *Puerto Rico Journal of Public Health and Tropical*, 9: 283-298, 1934.

HOSHINO-SHIMIZU, S. et al. Aspectos sorológicos e epidemiológicos da esquistossomose mansônica. *Suplemento dos Anais da Academia Mineira de Medicina*, 14: 67-89, 1986.

JASSIM, A.; CATTY, D. & HASSAN, K. Antibody isotypes in human schistosomiasis mansoni in Sudan. *Parasite Immunology*, 9: 651-665, 1987.

KAGAN, I. G. Hemagglutination after immunization with schistosome antigens. *Science*, 122: 376-377, 1955.

KANAMURA, H. Y. et al. Class specific antibodies and fluorescent staining patterns in acute and chronic schistosomiasis mansoni. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 28(2): 242-248, 1979.

KANAMURA, H. Y. et al. Anticorpos séricos IgA no diagnóstico da fase aguda da esquistossomose mansônica. *Instituto Adolfo Lutz*, 52: 101-104, 1991.

KANAMURA, H. Y. et al. IgM-immunofluorescence test as a diagnostic tool for epidemiologic studies of schistosomiasis in low endemic areas. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97: 485-489, 2002.

KATO, K. Acorrect applicationof the thick-smear technique with cellophane-paper cover. *A pamphlet* 1-9 (Japanese text), 1960.

KATO, K. & MIURA, M. Comparative examinations. *Japanese Journal of Parasitology*, 3: 35, 1954. (Japanese text).

KATZ, N.; CHAVES, A. & PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thick smear technique in schistosomiasis mansoni. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 14: 397-340, 1972.

KNIGHT, W. B. et al. A modification of the formol ether concentration technique for increased sensitivity in detection of *Schistosoma mansoni* eggs. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 25: 818-823, 1976.

KOMIYA, Y. & KOBAYASHI, A. Evaluation of Kato's thich-smear technic with cellophane cover for helmith eggs in feces. *Japanese Journal of Medical Science & Biology*, 19: 59-68, 1966.

LAMBERTUCCI, J. R. et al. Acute schistosomiasis mansoni: sonographic features. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 88: 76-77, 1994.

LI, Y. L. et al. Detection of *Schistosoma japonicum* antigen (Sj31/32) in sera of Chinese patients using a sandwich Elisa based on monoclonal antibody. *Tropical Medicine and Parasitology*, 45: 115-118, 1994.

LIPING, C. et al. The serological differentiation of acute and chronic schistosomiasis japonica using IgA antibody to egg antigen. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 91: 751-754, 1996.

LIU, C. & BANG, F. B. Agglutination of cercariae of *Schistosoma mansoni* by immune sera. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 76: 68-72, 1950.

LOOSS, A. What is '*Schistosomun mansoni*'? *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 2: 153-192, 1909.

LOPEZ, M. et al. Diagnosis of Leishmania using the polymerase chain reaction: a simplified procedure for field work. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 49: 348-356, 1993.

LUNDE, M. N. & OTTENSEN, E. A. Enzyme-linked immunosorbent assay (Elisa) for detecting IgM and IgE antibodies in human schistosomiasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 29: 82-85, 1980.

LUTZ, A. *Schistosoma mansoni* and schistosomiasis observed in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 11: 109-140, 1919.

MANSON, P. Report of a case of bilharzia from the West Indies. *BMJ*, 2: 1.894-1.895, 1902.

MANSOUR, M. M. et al. Serological differentiation of acute and chronic schistosomiasis mansoni by antibody responses to keyhole limpet hemocyanin. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 4: 338-344, 1989.

MARTIN, L. K. & BEAVER, P. C. Evaluation of Kato thick-smear technique for quantitative diagnosis of helminth infections. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 17: 382-391, 1968.

MARTINS, A. V. Sobre a pesquisa de ovos de *Schistosoma mansoni* pelo método da sedimentação-concentração. *Brazil-Médico*, 51: 319-321, 1937.

MARTINS, A. V. *Diagnóstico de Laboratório da Esquistossomose Mansônica*, 1949. Tese de Doutorado, Belo Horizonte: Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais.

MILLER, R. L. et al. Palaeoepidemiology of schistosoma infection in mummies. *BMJ*, 304: 555-556, 1992.

MINNING, W. Immunbiologische Nachweismethoden bei Bilharziosen. *Deutsche Tropenmedizinische Zeitschrift*, 45: 321-323, 1941.

MONTENEGRO, S. M. L. Immunodiagnosis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87: 333-335, 1992.

MONTENEGRO, S. M. L. et al. Dot- enzyme linked immunosorbent assay (dot-Elisa) for schistosomiasis diagnosis using dacron as solid phase. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 32: 139-143, 1999.

MOTT, D. E. & DIXON, H. Collaborative study on antigens for immunodiagnosis of schistosomiasis. *Bulletin of the World Health Organization*, 60: 729-753, 1982.

NOYA, O. et al. Laboratory diagnosis of schistosomiasis in areas of low transmission: a review of a line of research. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97: 167-169, 2002.

OKABE, K. & TANAKA, T. A new precipitin reaction for schistosomiasis japonica. *The Kurume Medical Journal*, 5: 45-52, 1958.

OLIVER-GONZALEZ, J. Anti-egg precipitin in the serum of humans infected with *Schistosoma mansoni. The Journal of Infectious Diseases*, 95: 86-91, 1954.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *O controle da esquistossomose*. Genebra: OMS, 1994. (Relatório Técnico, 830)

OTTALINA, C. & ATENCIO, H. M. Nuevos camiños para o dianóstico clinico preciso de la schistosomiasis mansoni. *Revista de la Policlinica Caracas*, 12: 1-35, 1943.

PAPPAS, M. G.; HAJKOWSKI, R. & HOCKMEYER, W. T. Dot enzyme-linked immunosorbent assay (Dot-Elisa): a micro techniquefor the rapid diagnosis of visceral leishmaniasis. *Journal of Immunological Methods*, 64: 205-214, 1983.

PIARROUX, R. et al. Isolation and characterization of a repetitive DNA sequence from *Leishmania infantum*: development of a visceral leishmaniasis polymerase chain reaction. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 49: 364-369, 1993.

POLDERMAN, A. M. The transmission of intestinal schistosomiasis in Begemder Province, Ethiopia. *Acta Leiden*, 42: 1-193, 1975.

POLMAN, K. et al. Day-to-day fluctuation of schistosome circulating antigen levels in serum and urine of humans infected with *Schistosoma mansoni* in Burundi. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 59: 150-154, 1998.

POLMAN, K. et al. Evaluation of density-dependent fecundity in human *Schistosoma mansoni* infections by relating egg counts to circulating antigens through Deming regression. *Parasitology*, 122: 161-167, 2001.

PONTES, L. A.; DIAS NETO, E. & RABELLO, A. Detection by polymerase chain reaction of *Schistosoma mansoni* DNA in human serum and feces. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 66: 157-162, 2002.

PONTES, L. A. et al. Comparison of a PCR assay and the Kato-Katz technique for diagnosing *Schistosoma mansoni* infection. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 68: 652-656, 2003.

RABELLO, A. *O Exame de Fezes, a Biópsia Retal e o Teste Imunoenzimático no Diagnóstico da Esquistossomose Mansônica Humana*, 1990. Dissertação de Mestrado, Belo Horizonte: Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais.

RABELLO, A. Diagnosing Schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92 (5): 669-676, 1997.

RABELLO, A. et al. Dot-Dye-Immunoassay for the diagnosis of schistosomiasis mansoni. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87: 187-190, 1992.

RABELLO, A. L. T. et al. Abdominal ultrasonography in acute clinical schistosomiasis mansoni. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 50: 748-752, 1994.

RABELLO, A. L. T. et al. Humoral immune responses in acute schistosomiasis mansoni: relation to morbidity. *Clinical Infectious Diseases*, 21: 608-615, 1995.

REY, L. Parasitos e doenças parasitárias nas Américas e na África. In: REY, L. *Parasitologia*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

RIPERT, C. et al. Detection with a monoclonal antibody of an antigen, characteristic of the genus *Schistosoma,* excreted in the urine. *Tropical Medicine and Parasitology*, 39: 131-135, 1988.

RUFFER, M. A. Note on the presence of *Bilharzia hematobium* in Egyptians mummies of the twentieth dynasty (1200-1000 BC). *BMJ*, 2: 16, 1910.

SADUN, E. H.; WILLIAMS, J. S. & ANDERSON, R. I. Fluorescent antibody technic for sero-diagnosis of schistosomiasis in humans. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 105: 289-291, 1960.

SAIKI, R. K. et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 230: 1.350-1.354, 1985.

SAMBOM, L. W. Remarks on *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 10: 303-304, 1907.

SAPERO, J. J. & LAWLESS, D. K. The 'M.I.F.' stain-preservation technic for identification of intestinal protozoa. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2: 613-619, 1953.

SCHRAMM, G. et al. Molecular characterization of an Interleukin-4-inducing factor from *Schistosoma mansoni* eggs. *The Journal of Biological Chemistry*, 278: 18.384-18.392, 2003.

SENTERFIT, L. B. Immobilization of *Schistosoma mansoni* miracidia by immune sera. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 84: 5-7, 1953.

SILVA, L. C. S. et al. Mielorradiculopatia esquistossomática. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 37(3): 261-272, 2004.

SILVA, P. Contribuição para o estudo da schistosomiase na Bahia. *Brazil-Médico*, 22: 281-283, 1908.

SILVA, Y. P. et al. Circulating antigens levels in different clinical forms of the *Schistosoma mansoni* infection. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94: 83-86, 1999.

SMITHERS, S. R. & DOENHOFF, M. J. Schistosomiasis. In: COHEN, S. & WARREN, K. S. *Immunology of Parasitic Infections*. Londres: Year Book Medical Pub., 1982.

SNOUNOU, G. et al. The importance of sensitive detection of malaria parasites in the human and insect hosts in epidemiological studies, as shown by the analysis of field samples from Guinea Bissau. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 87: 649-653, 1993.

SNOWDEN, K. & HOMMEL, M. Antigen detection immunoassay using dipsticksand colloidal dyes. *Journal of Immunological Methods*, 140: 57-65, 1991.

STEK, M. et al. Comparison of an enzyme-linked immunosorbent assay using crude *S. haematobium* soluble egg antigen with a radioimmunoassay using purified *S. mansoni* egg antigen for the serodiagnosis of schistosomiasis haematobium. *The Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 88: 1-6, 1985.

SUEYASU, Y. Uber die Komplementbindungs-Reaktion bei mit Schistosomum japonicum kunstlich infizieren Pferden. *Kyoto Igaku Zassi*, 33: 466-468, 1916.

VAN LIESHOUT, L. et al. Assessment of cure in schistosomiasis patients after chemotherapy with praziquantel by quantitation of circulating anodic antigen (CAA) in urine. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 44: 323-328, 1991.

VAN WEEMEN, B. K. & SCHUURS, A. H. W. M. Immunoassay using antigen-enzyme conjugates. *Febs Letters*, 15: 232-236, 1971.

VOGEL, H. & MINNING, W. Hullenbildung bei Bilharzia- Cercarien in serum bilharzia- infizierter Tiere und Menschen. *Zentralbl fBalkt*, 153: 91-105, 1949.

VOLLER, A.; BARTLETT, A. & BIDWELL, D. E. Enzyme immunoassys for parasitic diseases. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 70: 98-106, 1976.

WASSERMAN, A.; NEISSER, A. & BRUCK, C. Eine diagnostische reaktion bei syphilis. *Deutsche medizinische Wochenscrift*, 32: 745-746, 1906.

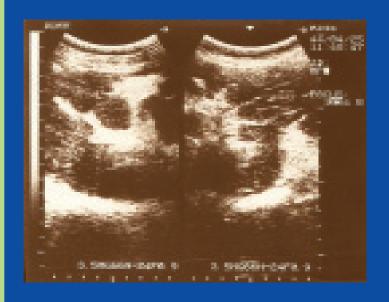
WILLIS, H. H. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. *The Medical Journal of Australia*, 6: 375-376, 1921.

WU, G. A historical perspective on the immunodiagnosis of schistosomiasis in China. *Acta Tropica*, 82: 193-198, 2002.

YOSHIMOTO, M. Ueber die Komplementbindungsreaktion bei der Schistosomum-Krankheit in Japan. *Zeitschrift Immunitätsforschung*, 4: 438-445, 1910.

YUESHENG, L. et al. The serological differentiation of acute and chronic *Schistosoma japonicum* infection by Elisa using keyhole limpet hemocyanin as antigen. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 88: 249-251, 1994.

32 Diagnóstico por Imagem

Ana Lúcia Coutinho Domingues

Ultra-sonografia (USG) de Fibrose periportal.

Os métodos de imagem utilizados para detecção das lesões provocadas por *Schistosoma mansoni*, particularmente no fígado e no sistema porta, são a ultra-sonografia (USG), a ressonância magnética, a tomografia computadorizada, a cintilografia e a esplenoportografia. Dentre eles, a USG é sem sombra de dúvidas o mais utilizado por ser não invasivo, simples de ser realizado, não ter as desvantagens da irradiação e ser comparativamente mais barato. Ela possibilita o diagnóstico da morbidade da doença, do seu estágio, ou seja, se há presença ou ausência de hepatomegalia, de esplenomegalia, de fibrose periportal e de sinais de hipertensão porta, que indicam maior gravidade. Por isso, a USG tem sido empregada em estudos de campo nas áreas endêmicas e também tem facilitado bastante as pesquisas epidemiológicas nas comunidades antes, durante e após a realização de programas de controle.

Neste capítulo se abordarão:

- A importância da USG no diagnóstico da fibrose de Symmers.
- As classificações ultra-sonográficas dessa fibrose.
- As correlações do grau de fibrose avaliada pela USG:
  - estudos epidemiológicos e evolutivos;
  - estudos evolutivos após tratamento;
  - USG na avaliação da hipertensão portal esquistossomótica;
  - USG *versus* marcadores sorológicos de fibrose;
  - ultra-sonografia com doppler na esquistossomose.

IMPORTÂNCIA DA USG NO DIAGNÓSTICO DA FIBROSE DE SYMMERS

A biópsia hepática em cunha sempre foi considerada como método mais sensível para o diagnóstico da fibrose de Symmers (Andrade, 1984). A biópsia por agulha freqüentemente não faz este diagnóstico, pois as alterações hepáticas decorrentes da esquistossomose, embora difusas, não são uniformes, mas variam grandemente na intensidade com que atingem as diferentes áreas do fígado (Polak et al., 1959), além do que as grossas faixas de fibrose resvalam na agulha de biópsia. Durante tese de doutorado, houve oportunidade de se realizar biópsia em cunha e biópsia por agulha, em prática cirúrgica, no mesmo paciente, em 21 casos de esquistossomose hepatoesplênica (Domingues, 1998). Em todos, houve o cuidado de se realizar biópsia em cunha com profundidade acima de um centímetro e meio para evitar qualquer erro de amostragem em decorrência de uma biópsia muito próxima à cápsula. A intensidade da fibrose foi sempre inferior na biópsia por agulha, que não foi capaz de mostrar as grossas faixas de fibrose típicas da esquistossomose. Dimmette (1955) já havia obtido resultados semelhantes comparando os dois tipos de biópsia em trinta pacientes. A biópsia em cunha, por ser procedimento cirúrgico e necessitar de internamento, acarreta maior morbidade, não sendo indicada em pacientes clínicos e, por motivos éticos, não deve ser utilizada no diagnóstico e seguimento de pacientes em estudos epidemiológicos e após o tratamento específico.

Um dos primeiros trabalhos sobre o uso da USG na esquistossomose mansoni foi de Abdel-Wahab, em 1978, que descreveu pela primeira vez as alterações hepáticas observadas por ultra-som na forma hepatoesplênica da doença durante o III Simpósio Internacional sobre Diagnóstico por Imagem, realizado no Cairo, Egito (Hatz et al., 1992). Posteriormente, Abdel-Latif, Abdel-Wahab & El-Kady (1981) relataram as faixas hiperecogênicas de fibrose periportal no fígado em 25 pacientes com esquistossomose hepatoesplênica, e relacionaram o aumento do diâmetro das veias porta e esplênica com hipertensão porta avaliada pela pressão esplênica transparietal.

Numa investigação de 103 pacientes com esquistossomose hepatoesplênica no Brasil, dos quais 83 realizaram biópsia hepática em cunha, Cerri, Alves & Magalhães (1984) foram os primeiros a correlacionarem os achados ultra-sonográficos com os aspectos anatomopatológicos. Eles relataram como principais sinais ultra-sonográficos relacionados à esquistossomose hepatoesplênica: as faixas de fibrose periportal, a hipertrofia do lobo esquerdo, a atrofia do lobo direito, o espessamento da parede da vesícula biliar, o aumento do diâmetro dos vasos portais e a esplenomegalia. Como alterações ultra-sonográficas menos freqüentes relataram circulação colateral, granulações no fígado, padrão nodular do baço e trombose da veia porta.

Dois importantes trabalhos marcaram definitivamente o valor da USG no diagnóstico da fibrose de Symmers. Homeida et al. (1988a), no Sudão, fizeram um estudo duplo-cego prospectivo, comparando o diagnóstico ultra-sonográfico pré-operatório com o da biópsia em cunha em 41 pacientes submetidos à cirurgia para tratamento da hipertensão porta. A USG diagnosticou corretamente 28 casos de fibrose de Symmers e dez pacientes sem fibrose periportal. Em três pacientes houve discordância entre os patologistas no diagnóstico da fibrose de Symmers. Em dois destes o ultra-som diagnosticou fibrose de Symmers e o outro caso em que o ultra-som não diagnosticou teve como diagnóstico final hepatite granulomatosa. A sensibilidade e a especificidade da USG foram de 100%, donde se concluiu ser a USG um método tão sensível quanto a biópsia em cunha para o diagnóstico da fibrose hepática esquistossomótica, sugerindo

que a USG deveria substituir a biópsia em cunha do fígado como método de escolha para o diagnóstico da fibrose de Symmers. Um trabalho semelhante foi feito por Abdel-Wahab et al. (1989), no Egito, comparando os achados sonográficos hepáticos com os histológicos em cinqüenta pacientes submetidos à cirurgia para tratamento da hemorragia digestiva alta. Os autores inferiram ser o padrão ultra-sonográfico da fibrose hepática esquistossomótica, na forma hepatoesplênica, característico e não imitado por outras doenças hepáticas. Nesse trabalho, a USG foi capaz de diferenciar a esquistossomose da cirrose hepática e também de lesões combinadas e concluiu-se ser a USG um método mais acurado no diagnóstico da fibrose de Symmers que a biópsia hepática, por mostrar o fígado todo e ser menos influenciada por erros de amostragem. Os critérios ultra-sonográficos para a fibrose da esquistossomose foram descritos como múltiplas e difusas áreas ecogênicas espalhadas pelo fígado, em faixas, tendo uma característica constante da área central sonoluscente. Estas áreas representam as traves portais espessadas e fibrosadas com as tributárias da veia porta dentro. Aparecem como faixas longitudinais de espessamento irregular quando a veia porta é vista longitudinalmente, e como focos ecogênicos redondos com sonoluscência central quando o corte da USG é transverso à veia (Figuras 1, 2). Na cirrose hepática a ecogenicidade é difusa e não se limita às veias porta, isto é, há pequenos pontos ecogênicos difusos por todo o parênquima, além de irregularidades do contorno e superfície hepática (Figura 3). Os casos em que há doença hepática mista, ou seja, concomitância de cirrose e esquistossomose, há combinação de ambas as lesões no mesmo paciente que muitas vezes pode ser distinguida pela USG (Figura 4). Nos casos de doença mista relacionada com infecção pelos vírus B ou C da hepatite, quando o estágio da cirrose é mais avançado pode-se ter dificuldade em classificar a fibrose periportal (Pereira et al., 1998).

Figura 1 – Fibrose de Symmers – USG
Faixas de Fibrose

Corte Longitudinal

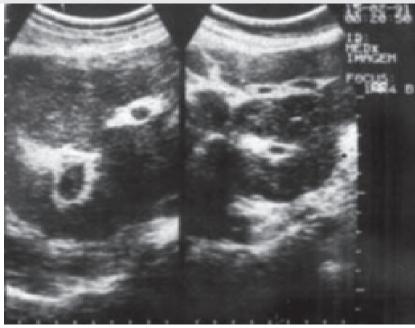
Figura 2 – Fibrose de Symmers – USG
Faixas de Fibrose

Corte transverso

Figura 3 – Cirrose Hepática – USG*

* Pequenos focos ecogênicos difusos, superfície irregular, ascite.

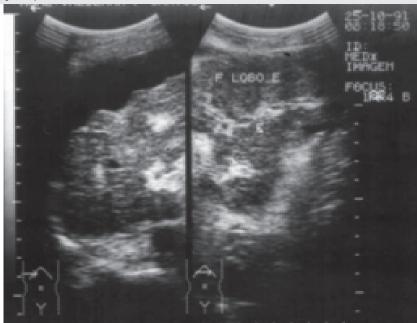



Figura 4 – Doença hepática crônica mista – USG*

* Ascite, superfície lobulada, fibrose periportal.

Em um segundo estudo, Homeida et al. (1988b), ao analisarem 590 indivíduos em duas vilas em Gezira, Sudão, com o recurso da USG, sem realizar biópsia hepática, encontraram fibrose de Symmers em 18% dos indivíduos em uma vila e 13%, na outra; a intensidade de infecção por *S. mansoni* foi de 71% e 37%, respectivamente. Nessas vilas a presença de fibrose de Symmers diagnosticada pela USG foi duas a três vezes acima da avaliada pelo exame clínico, ou seja, com a presença de esplenomegalia. A fibrose de Symmers foi classificada em três graus, variando de leve, grau 1, a intensa, grau 3. O envolvimento foi maior entre as pessoas de vinte a trinta anos e seguiu o pico máximo de excreção de ovos, intensidade da infecção, por cinco anos. A prevalência da infecção, o grau de esplenomegalia, assim como o aumento dos diâmetros das veias porta e esplênica, aumentaram com o aumento do grau de fibrose. Coutinho (1990), em trabalho de revisão e analisando os trabalhos pioneiros de Homeida et al. (1988) e Abdel-Wahab et al. (1989), ressaltou o valor da USG no diagnóstico da fibrose hepática esquistossomótica, mas chamou a atenção para a utilização do termo 'fibrose de Symmers' nos casos de fibrose leve grau 1 descritos nos exames ultra-sonográficos, já que pela descrição original a fibrose de Symmers constitui as grossas faixas de fibrose difusa em todo o parênquima, característica da forma avançada da doença, a hepatoesplênica, e possivelmente correspondendo aos graus II e III da fibrose descrita no exame ultra-sonográfico. Coutinho sugeriu a denominação de fibrose periportal por ultra-sonografistas, principalmente, e Fibrose de Symmers por patologistas, o que ora será adotado. Fibrose de Symmers corresponderá, então, aos estágios mais avançados da fibrose periportal, característicos da forma hepatoesplênica da doença.

CLASSIFICAÇÕES ULTRA-SONOGRÁFICAS DA FIBROSE PERIPORTAL

As primeiras tentativas de graduar a fibrose periportal, por meio da USG, foram feitas por Homeida et al. (1988a, 1988b), que a classificaram inicialmente em quatro graus e posteriormente em três graus de acordo com a espessura dos ramos portais mais periféricos e das paredes do tronco e bifurcação da veia porta. Os dois primeiros graus da primeira classificação de Homeida et al. foram agrupados em um só pela dificuldade de se perceber a fibrose inicial, ficando a seguinte graduação, que é essencialmente descritiva:

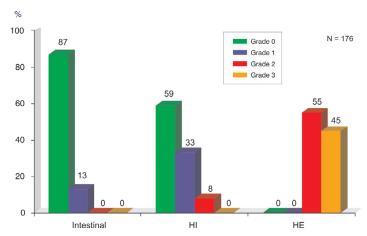
- Grau I – Mínimo espessamento ecogênico das paredes de duas ou mais radículas portais, principalmente periféricas, com pouco ou nenhum espessamento da parede da veia porta principal, ou ecogenicidade difusa, fina e linear espalhada pelo fígado, principalmente na periferia do órgão.
- Grau II – Leve espessamento ecogênico das paredes de duas ou mais radículas portais periféricas, com pouco ou nenhum espessamento da parede da veia porta principal e com leve estreitamento das radículas portais. Há espessamento da parede da vesícula biliar. Nesse grau a fibrose periportal é bem mais evidente que no anterior e se notam estreitamentos irregulares do lúmen dos vasos portais.
- Grau III – Espessamento periportal moderado a severo, de distribuição irregular da maioria das radículas portais com marcado estreitamento da sonoluscência central. O espessamento é acentuado na bifurcação da veia porta, estendendo-se para a superfície do fígado. A parede da veia porta principal está espessada de 2 a 10 mm, assim como a parede da vesícula biliar.

No último trabalho de Homeida et al. (1988b), realizado em área endêmica, em duas vilas de Gezira, Sudão, foram estudados grupos de 353 e 247 indivíduos randomizados, de população total de 1.210 e mil habitantes de cada vila. Fibrose grau I foi encontrada em 60% e 65% dos indivíduos, com igual número em todas as faixas etárias. O grau I foi julgado pelos autores como a fase inicial da doença; ou uma condição antiga já estabilizada numa doença estável; ou a fibrose numa fase de regressão. Os graus II e III representaram 34% e 32 % e 6% e 3 %, respectivamente, em cada vila, e mostraram ser estágios mais avançados da doença, como os comumente encontrados em hospitais, ou seja, 'fibrose de Symmers' propriamente dita. A prevalência, o grau da esplenomegalia e os diâmetros das veias porta e esplênica indicando hipertensão porta correlacionaram-se com a extensão da fibrose hepática. Nessas vilas a USG foi mais sensível que o exame clínico na avaliação da fibrose periportal. Utilizando a classificação de Homeida, Domingues et al. (1993) estudaram 176 portadores de esquistossomose mansoni com diferentes formas clínicas da doença. A maioria dos pacientes classificados pela clínica como forma intestinal não apresentaram fibrose periportal e 12,8 % tiveram fibrose grau I. Nos pacientes classificados com forma hepatointestinal houve 58,4 % sem fibrose, 33,3 % com fibrose grau I e 8,3 % com fibrose grau II. Todos os pacientes com forma hepatoesplênica apresentaram fibrose grau II ou III, havendo uma acentuação do grau de fibrose à medida que a doença evoluiu, e correlação do grau de fibrose com forma clínica da esquistossomose mansoni (Gráfico 1).

Doehring-Schwerdtfeger et al. (1989), estudando 536 crianças, entre 6 e 15 anos de idade, em Managil, vila do Sudão, todas com exame parasitológico de fezes positivo para *S. mansoni*, verificaram que as alterações ultra-sonográficas encontradas nas crianças diferiam das dos adultos e propuseram uma

classificação em três graus para fibrose periportal em crianças baseada na espessura das faixas de fibrose. Esta classificação já estabelece medições, ou seja, quantificação da fibrose:

- Grau 1 – Faixa ecogênica com diâmetro maior que 4 mm e menor que 10 mm entre a bifurcação da veia porta e o colo da vesícula biliar.
- Grau 2 – Faixa ecogênica maior que 10 mm entre a bifurcação da veia porta e o colo da vesícula biliar.
- Grau 3 – A mesma característica do grau 2, mas as faixas de fibrose estendem-se para a periferia do fígado.

Gráfico 1 – Grau de fibrose hepática *versus* formas clínicas da esquistossomose mansoni

Fonte: Domingues et al. (1993).

Chamaram atenção também para a presença de fibrose periférica, ou seja, de pequenos focos ecogênicos difusos pela periferia do fígado, geralmente maior que 3 mm de diâmetro e com até 1 cm de extensão. Interpretaram como o envolvimento hepático inicial da doença, devido às obstruções dos ovos de *S. mansoni* na periferia do fígado. Esta classificação ficou conhecida como classificação de Managil. A partir dessas tentativas iniciais de classificação, a USG foi utilizada em vários estudos epidemiológicos nas várias regiões endêmicas, provando ser um método útil e factível. Como as metodologias usadas nos diversos trabalhos variavam entre si, dificultando a comparação dos resultados, tornou-se necessário padronizar o uso da USG no diagnóstico das alterações provocadas pela esquistossomose, particularmente da fibrose periportal. Para isto, se reuniram no Cairo, Egito, em outubro de 1990, especialistas em USG na esquistossomose, a convite da OMS, e foram estabelecidos protocolos de estudo e classificações dos achados para os três tipos de esquistossomose, mansoni, hematóbia e japônica. Estes protocolos passaram a serem conhecidos como classificação do Cairo (WHO, 1993; Jenkins & Hatz, 1992).

Para a esquistossomose mansoni, em relação ao fígado estuda-se: a superfície hepática, o tamanho dos lobos direito e esquerdo e a fibrose periportal. Classificou-se a fibrose periportal em três graus de acordo com a média das medidas dos diâmetros (externo-externo) de três ramos periféricos da veia porta. Estas medidas devem ser feitas entre a primeira e terceira bifurcação da veia porta, ramos de segunda e terceira ordem. A fibrose foi classificada como grau 1 quando a média estava entre 3 mm e

5 mm; grau 2, de > 5 mm a 7 mm; e grau 3, > 7 mm. Além disso, estudam-se os diâmetros das veias porta e esplênica, a presença de circulação colateral e o tamanho do baço, para caracterizar a hipertensão porta. Esta classificação foi proposta principalmente para facilitar os estudos epidemiológicos e consideraram-se quatro critérios na escolha das alterações patológicas estudadas: primeiro, as lesões que indicassem forma clínica mais severa, como as que indicam presença de hipertensão porta na esquistossomose mansoni; segundo, as lesões que fossem características de infecção por *S. mansoni*, não encontradas em outras doenças, ou seja, a fibrose periportal; terceiro, com o objetivo de simplificar a metodologia para favorecer o uso da USG em campo por profissionais da saúde treinados, mesmo sem serem médicos ou ultra-sonografistas; e quarto, para avaliação tardia do tratamento específico. Neste caso, tornou-se necessário quantificar os parâmetros avaliados. Baseado nessas avaliações, foi estabelecida uma proposta de estadiamento da infecção por *S. mansoni* (Quadro 1).

Quadro 1 – Proposta para estadiar a infecção por *Schistosoma mansoni* (Protocolo do Cairo)

Estágio	0	I	II	III
Espessamento periportal	–	+/++	+/++/+++	++/+++
Aumento do baço	–	–	+	+
Aumento do lobo esquerdo	–	+/-	+/-	+
Atrofia do lobo direito	–	+/-	+	+
Aumento do diâmetro da veia porta	–	–	+	+
Colaterais (adultos)	–	–	+/-	+
Adicionais				
Ascite	–	–	–	+
Espessamento da parede da v. biliar	–	–	+/-	+

Obs.: – = sem alteração; +/- = pode ou não estar alterado; +/++/+++ = alterado, graduação.

Fonte: Adaptado de WHO (1993); Jenkins & Hatz (1992).

Na Figura 5 encontram-se as posições utilizadas pelo Protocolo do Cairo para estudo do fígado, baço e veias porta e esplênica. Na figura 6 estão as imagens ultra-sonográficas mostrando fibrose graus 1, 2 e 3.

Para a padronização das medidas é importante se seguir sistematicamente o protocolo. A posição do transdutor deve ser bem precisa para a medida não variar muito de um examinador para outro e proporcionar o seguimento do paciente ao longo do tempo. Num estudo longitudinal, deve-se ter o cuidado de se usar o mesmo tipo de transdutor, linear ou convexo. Para se estabelecer se os órgãos estão em tamanho normal, aumentado ou diminuído, dever-se-ia ter os valores da normalidade para faixas etárias e de alturas para cada região. Na impossibilidade de se ter as medidas de cada região, foram utilizados, no Protocolo do Cairo, alguns limites como 70 mm para o lobo esquerdo e 140 mm

para o lobo direito do fígado e 120 mm para o diâmetro longitudinal do baço na linha axilar média. Foi sugerido aos pesquisadores que buscassem obter as dimensões dos valores normais em adultos e crianças em suas áreas endêmicas.

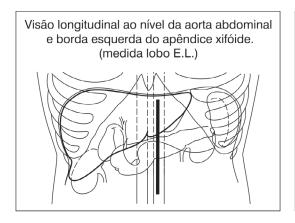
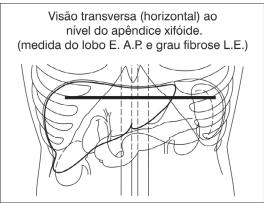
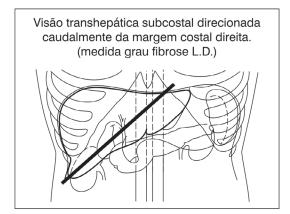
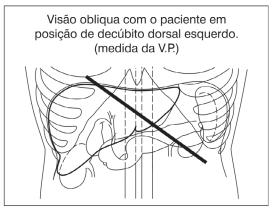
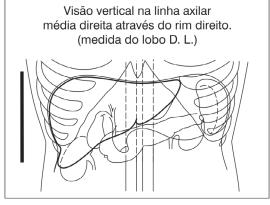
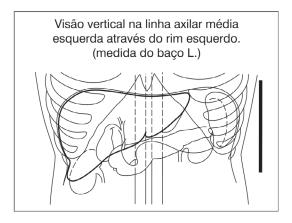
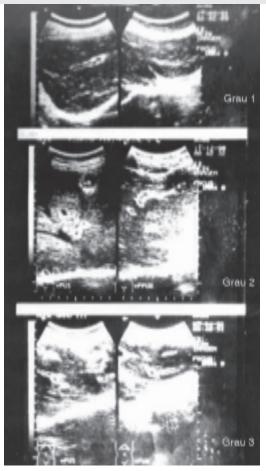
Figura 5 – Posições utilizadas – USG*

*Protocolo do Cairo (TDR / SCH / ULTRASON / 91.3).

Figura 6 – Protocolo do Cairo – USG

Utilizando o Protocolo do Cairo, a experiência mostrou que não há maiores dificuldades na avaliação da doença em estágio mais avançado, ou seja, na forma hepatoesplênica com fibrose bem estabelecida. Em estágios iniciais da doença, houve uma variação em torno de 20% na distinção entre ausência ou presença de fibrose periportal leve (Doehring-Schwerdtfeger et al., 1922a). Noorman et al. (1995), estudando adultos no Egito, e Friis et al. (1996), estudando crianças no Zimbábue, teceram comentários sobre a dificuldade da classificação do Cairo no diagnóstico da fibrose leve, grau 1, que tem sido encontrada indistintamente em indivíduos infectados e não infectados, e sugeriram rever os critérios de diagnóstico da fibrose grau 1. Nas formas clínicas mais estabilizadas, com fibrose graus 2 e 3, encontrou-se correlação entre grau de fibrose e gravidade da doença e, com a intensidade da infecção, esta última apenas em crianças e adultos até 29 anos. No Brasil, Rocha et al. (1993) já haviam relatado falta de sensibilidade da USG para diferenciar os indivíduos infectados dos não infectados, em duas regiões endêmicas. Em relação à fibrose grau 1, Cazier & Sponaugle (1996) relataram o caso de um paciente que apresentou imagens ultra-sonográficas, compatíveis com fibrose 1, que foram relacionadas ao jejum prolongado, pela diminuição do glicogênio hepático. Este padrão também tem sido descrito em pacientes com hepatite aguda, leucemias, edemas, Doença de Gaucher e Sarcoma de Kaposi (Dohering-Scherdtfeger et al., 1989; Jenkins & Hatz, 1992; Cazier & Sponaugle, 1996). Baseados nesses últimos trabalhos, Kardorff et al. (1996), num estudo

epidemiológico em Ndombo, Senegal, utilizou o Protocolo do Cairo, mas relacionou as medidas com a idade e altura dos pacientes e determinou o local exato de medir o diâmetro do ramo portal periférico, logo após a segunda bifurcação intra-hepática, ramo de terceira ordem. Thomas et al. (1997) fizeram um estudo em Richard Toll, Senegal, comparando as classificações do Cairo e Managil para avaliação da fibrose periportal e avaliaram também a variação de diagnóstico inter e intra-examinador. Houve considerável variação entre dois observadores com a classificação do Cairo e também com o mesmo examinador quando este usou as duas classificações, na determinação do grau 1 de fibrose. Foi observada relação linear entre os diâmetros da veia porta e alturas dos indivíduos. Ambas as classificações falharam ao separar fibrose grau 1 entre indivíduos infectados e não infectados. As principais causas de erro com a classificação do Cairo foram a não determinação do ponto exato de medir o ramo portal e não relacionar as medidas com a altura dos pacientes. Em 2001, foi publicado um interessante trabalho comparando a classificação de Managil com a do Cairo, sendo esta última realizada de dois modos, com a medida após a segunda e a terceira bifurcações da veia porta (Hoffman et al., 2001). A medida feita após a segunda bifurcação superestimou a detecção de fibrose leve em 60% a 65 %, enquanto que a medida feita após a terceira bifurcação foi semelhante a da classificação de Managil em mais de 80% dos casos. A classificação de Managil também superestimou a presença de fibrose grau 1 principalmente em crianças abaixo de cinco anos, em que não se espera encontrar fibrose periportal.

Em outubro de 1996, em Niamey, Nigéria, houve um segundo simpósio organizado pela OMS para tentar resolver os problemas com as classificações (WHO, 1997). Neste simpósio foram elaborados um protocolo e um sistema de classificação sofisticado que incluíram características das duas classificações mais utilizadas (Cairo e Managil). Introduziram-se aspectos qualitativos da textura hepática, com medidas quantitativas das paredes dos ramos portais logo após a segunda bifurcação, ramos subsegmentares. Os critérios utilizados foram os mesmos da classificação do Cairo, assim como as posições dos transdutores para as medições. Foram revistos os modos de estadiamento das lesões e proposta uma correção dos valores medidos pela altura dos pacientes. Tentou-se instituir uma distinção em relação à fibrose periportal entre o padrão normal, casos suspeitos ou duvidosos, e casos com fibrose indiscutível. Foram sugeridos dois métodos de avaliação da fibrose periportal, um qualitativo ou descritivo baseado em padrões pré-estabelecidos da textura hepática (Padrão de Imagem) e um quantitativo, envolvendo as medidas da espessura das paredes portais após a segunda bifurcação (Padrão de Fibrose). Foi recomendado se usar os dois métodos até que se houvesse adquirido uma experiência suficiente para uma decisão sobre qual seria o mais adequado. Por isso, atualmente, o uso desse protocolo é mais complicado e consome mais tempo.

É importante ter em mente que a USG nunca fornece um diagnóstico histológico. Os resultados da USG devem ser interpretados no contexto clínico.

Baseado no Protocolo de Niamey, o indivíduo infectado receberá três escores: Padrão de Textura ou de Imagem (PI), análise qualitativa da fibrose periportal; Padrão de Fibrose ou Espessamento Portal (EP), análise quantitativa da fibrose; e o escore de hipertensão portal (HP) (Quadros 2 e 3).

Nas Figuras 7 a 10 acham-se os diversos padrões de imagem do Protocolo de Niamey.

Quadro 2 – Padrões de textura ou de imagem hepática (PI-escore)

Padrão	Textura hepática	PI-escore
B	'Céu estrelado'. Focos ecogênicos difusos e pequenos na periferia do parênquima.	1
C	'Anéis' ecogênicos que correspondem à fibrose periférica.	2
D	'Telhado' ecogênico no tronco e bifurcação da veia porta, fibrose central.	4
E	Faixas ecogênicas estendendo-se da veia porta e bifurcações para o parênquima. Fibrose periportal avançada.	6
F	Faixas ecogênicas estendendo-se da veia porta e suas bifurcações até a superfície hepática, retraindo-a. Fibrose periportal muito avançada.	8
CB	Padrões combinados.	2
DC, DB	' '	4
EC, EB	' '	6
FC, FB	' '	8

Quadro 3 – Padrões não indicando fibrose periportal (nenhum escore é atribuído)

Padrão	Textura hepática	Escore
A	Fígado normal	-
X	Cirrose hepática	-
Y	Esteatose hepática	-
Z	Outras lesões hepáticas, a se especificar	-

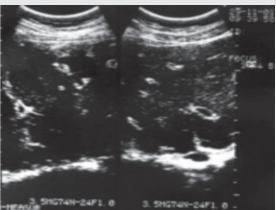
Figura 7 – Protocolo de Niamey – USG*

*Padrão C – Fibrose periportal periférica.

Figura 8 – Protoco de Niamey – USG*

* Padrão D – Fibrose periportal central.

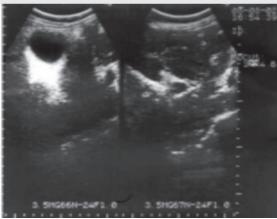



Figura 9 – Protoco de Niamey – USG*

* Padrão E – Fibrose periportal avançada.

Figura 10 – Protocolo de Niamey – USG*

* Padrão F – Fibrose periportal muita avançada.

Padrões de Fibrose ou Espessamento Periportal: análise quantitativa da fibrose (PE-escore)

Se o fígado tem o aspecto normal, escore = 0 (não fazer mais medidas).

Se o parênquima apresentar sinais de fibrose periportal: dar o valor 1 para o escore e continuar:

Medir o espessamento das paredes dos ramos portais de segunda ordem, ou seja, os primeiros ramos segmentares que deixam os ramos direito e esquerdos da veia porta (Figura 11).

Medir, no ponto onde as paredes estão mais espessas, o mais perto possível da bifurcação, os diâmetros, externo e interno (lúmen), e subtrair o lúmen do diâmetro externo, fazer duas a três medidas e calcular a espessura média destes ramos segmentares. O cálculo do escore da espessura da parede é feito 'ajustando-se' o resultado da espessura média pela altura do paciente, comparando-se a média obtida com os dados da Tabela 2 e o gráfico da Figura 11 (dados de normalidade obtidos por Yazdanpanah et al., 1997).

Até dois desvios padrões acima ou abaixo da média: escore = 0 (x).

Acima de dois e até quatro desvios padrões acima ou abaixo da média: escore = 3 (y).

Acima de quatro desvios padrões acima ou abaixo da média: escore = 7 (z).

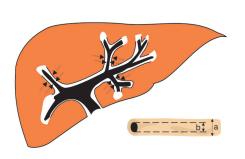
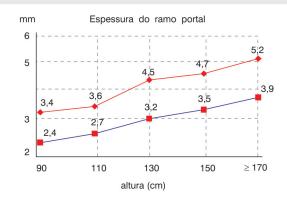
O escore final ou PE-escore será a soma de 1 + x, y ou z, ou seja, 1 ou 4 ou 8, padrão normal, aumentado ou muito aumentado (x = 0; y = 3; z = 7).

Tabela 2 – Espessura média das paredes dos ramos portais segmentares

Altura (cm)	Até 2 SD	Até 4 SD
80 - 100	2,5	3,4
101 - 120	2,7	3,6
121 - 140	3,2	4,5
141 - 160	3,5	4,7
> 160	3,9	5,2

SD = desvio padrão (média do grupo).

Fonte: Adaptado de Yazdanpanah et al. (1997).

Figura 11 – Medida do diâmetro do Ramo Portal da 2ª ordem
Escore de Fibrose – PE

Fonte: Yazdanpanah et al. (1997).

Escore de Hipertensão Porta

Os parâmetros estudados são: diâmetro da veia porta, presença de circulação colateral e de ascite. O diâmetro interno da veia porta é medido no ponto de entrada da veia porta no fígado, e também é ajustado pela altura do paciente (Tabela 3), igualmente baseado no trabalho de Yazdanpanah et al. (1997). São dados os seguintes valores para cálculo do escore:

Veia porta normal: até dois desvios padrões acima ou abaixo do valor médio, escore = 0.

Veia porta dilatada: acima de dois e até quatro desvios-padrões da média, escore = 4.

Veia porta muito dilatada: acima de quatro desvios padrões da média, escore = 6.

Presença de circulação colateral (veia gástrica esquerda quando > 4 mm, veias gástricas curtas, veias nos hilos esplênico e hepático, esplenorrenal e veia umbilical): escore = 4; ausência, escore = 0.

Presença de ascite, escore = 3; e ausência, escore = 0.

O escore de hipertensão portal final, HP-escore, será a soma do escore da veia porta + escore de circulação colateral + escore de ascite e vai variar de 0 até 13 (0, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10 e 13), em que escore 0 corresponde à veia porta não dilatada, sem ascite e sem colaterais e escore 13 corresponde à veia porta muito dilatada e presença de colaterais e ascite.

Tabela 3 – Diâmetro interno da veia porta principal

Altura (cm)	Até 2 SD (mm)	Até 4 SD (mm)
80 - 100	6,8	8,7
101 - 120	7,9	10,2
121 - 140	9,0	11,1
141 - 160	11,3	14,9
> 160	12,3	15,8

SD = desvio padrão (média do grupo).

Fonte: Adaptado de Yazdanpanah et al. (1997).

A interpretação dos três escores finais em termos da severidade da doença encontra-se na Tabela 4. Quando o indivíduo não apresenta anormalidades ou tem doença mais avançada é facilmente classificado; a interpretação torna-se mais difícil nas lesões duvidosas ou suspeitas.

Tabela 4 – Interpretação do escore final, Protocolo de Niamey

PI-escore	PE-escore	PH-escore	Interpretação
0	0	0	Sem sinal de fibrose periportal
1 - B	1	0	Fibrose periportal incipiente, não excluída
2 - C	1	0	Fibrose periportal possível
4 - D	1	0	Fibrose periportal provável
2 - C	4,8	0	Presença de fibrose periportal, leve
4 - D	4, 8	0	Presença de fibrose periportal, leve
6 - E	(1,) 4,8	0	Fibrose periportal avançada
8 - F	(1,) 4,8	0	Fibrose periportal avançada
4-8 (D,E,F)	(1,) 4,8	3-13	Fibrose periportal avançada + hipertensão portal

O Protocolo de Niamey foi analisado durante os 6º. e 7º. Simpósios Internacionais sobre Esquistossomose, realizados no Brasil em 1997 e 1999 (Richter et al., 2002). Os pesquisadores que iniciaram a utilização deste protocolo na África (Uganda e Senegal) e no Brasil (Minas Gerais e Pernambuco) relataram as dificuldades encontradas com as medidas do padrão de fibrose, ou seja, o PE-escore. Além de serem trabalhosas e de consumirem tempo do exame, essas medidas não apresentaram boa reprodutibilidade inter e intra-observador. A avaliação da fibrose pelos padrões de imagem, PI-escore, mostrou-se mais fácil e rápida de ser realizada e com baixa variação interobservadores. No diagnóstico da fibrose central o grupo de Minas Gerais estabeleceu como normalidade até 5 mm, em indivíduos com até 40 kg, e até 6 mm, em indivíduos com mais de 40 kg. O local mais fácil para medida da fibrose central seria na bifurcação da veia portal, em frente ao tronco da veia porta, num corte oblíquo (Gerspacher-Lara et al., 1997).

A medida da parede da vesícula biliar também é um bom índice de avaliação de fibrose periportal, pois a fibrose do hilo da veia porta freqüentemente se estende para a parede da vesícula (Cerri, Alves & Magalhães, 1984). Tem sido relatada correlação entre o grau de fibrose periportal e o grau do espessamento da parede da vesícula biliar (Aroucha et al., 2001). A fibrose perivesicular na esquistossomose tem a característica de ser bem mais acentuada do que em outras hepatopatias que cursam com hipertensão portal, como na cirrose hepática, e de emitir septos fibrosos para o parênquima hepático (Cerri, Alves & Magalhães, 1984; Aroucha et al., 2001; Ali et al., 1990). Não há alteração da função contráctil da vesícula biliar (Ali et al., 1990).

O grupo de Minas Gerais mostrou também ter boa experiência com a USG, no diagnóstico da forma aguda da esquistossomose mansoni. Ele relatou presença de hepatoesplenomegalia com padrão homogêneo e de linfonodos em hilo hepático e peripancrático (Lambertucci et al., 1994; Rabello et al., 1994; Barata, Pinto-Silva & Lambertucci, 1999). Embora as lesões descritas não sejam específicas, sua presença junto com o quadro clínico e hematológico reforça o diagnóstico da forma aguda. Estes linfonodos diminuíram de tamanho após o tratamento da esquistossomose, mas permaneceram visíveis até 24 meses após o término do tratamento (Barata, Pinto-Silva & Lambertucci, 1999).

Nas Tabelas 5, 6 e 7 encontra-se relatada a experiência de utilização, ao mesmo tempo, dos protocolos de Niamey e Cairo na avaliação de pacientes com forma hepatoesplênica (n = 280) e hepatointestinal (n = 52) atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernanbuco (UFPE), nos últimos anos. Trata-se de um hospital de referência, naquele estado, para o atendimento a pacientes com forma hepatoesplênica, particularmente o manuseio após episódios de hemorragia digestiva alta, por isso o grande número de entrada de pacientes com esta forma clínica. As medidas dos ramos portais para o protocolo do Cairo foram feitas nos ramos terciários da veia porta. Observa-se que as melhores relações foram com o Padrão de Imagem, tanto em relação com o padrão de fibrose (Niamey *versus* Niamey), como com o grau de fibrose pelo Protocolo do Cairo (Niamey *versus* Cairo).

O grau de fibrose 1 do Protocolo do Cairo apresentou grandes variações. Na Tabela 6, comparando-se o Protocolo do Cairo com o escore de Imagem do Protocolo de Niamey, 12% dos pacientes com fibrose grau 1 (11/91) foram classificados como padrão E ou F, fibrose avançada e muito avançada pelo Protocolo de Niamey; já na Tabela 7, 25% dos pacientes com fibrose grau 1 pelo Protocolo do Cairo (23/91) foram classificados com EP-escore de 8, ou seja, fibrose muito avançada pelo Protocolo de Niamey.

Tabela 5 – Padrão de Imagem (PI-escore) *versus* Padrão de Fibrose (PE-escore). Niamey *versus* Niamey

PI-escore	PE-escore PE=1		PE-escore PE=4		PE-escore PE=8		Total
B 1	0	0 %	2	100%	0	0 %	2
C 2	7	29 %	15	63 %	2	8 %	24
D 4	9	9 %	43	45 %	43	45 %	95
E 6	5	3 %	43	26 %	124	72 %	172
F 8	0	0 %	3	8 %	36	92 %	39
Total	21		106		205		332

Tabela 6 – Padrão de Imagem (PI-escore) *versus* Protocolo do Cairo: Niamey *versus* Cairo

PI-escore	Grau 1 (Cairo)		Grau 2 (Cairo)		Grau 3 (Cairo)		Total
B 1	2	100%	0	0%	0	0 %	2
C 2	24	100%	0	0 %	0	0 %	24
D 4	54	57%	41	43%	0	0 %	95
E 6	10	6 %	155	90%	7	4 %	172
F 8	1	3 %	11	28%	27	69 %	39
Total	91		207		34		332

Tabela 7 – Padrão de Fibrose (PE-escore) *versus* Protocolo do Cairo: Niamey *versus* Cairo

PE-escore	Grau 1 (Cairo)		Grau 2 (Cairo)		Grau 3 (Cairo)		Total
1	18	86 %	3	14 %	0	0 %	21
4	50	47 %	54	51 %	2	2 %	106
8	23	11 %	150	73 %	32	15 %	205
Total	91		207		34		332

Em relação às formas clínicas, intestinal e hepatoesplênica, a classificação pelos padrões de imagem deu resultados mais consistentes (Tabela 8). A classificação do Cairo foi a que mostrou os resultados mais discrepantes, em torno de 20%, ou seja, 21% dos pacientes de forma HI apresentaram fibrose graus 2 e 3 e 18% dos pacientes de forma HE apresentaram fibrose grau 1, além de concentrar muito os pacientes de forma HE com fibrose grau 2 (Tabela 9). A avaliação quantitativa da classificação de Niamey, PI-escore e PE-escore (Tabela 10) deu resultados inferiores aos da avaliação qualitativa pelo padrão de imagem da mesma classificação (Tabela 8). Provavelmente, esta avaliação qualitativa, por intermédio dos padrões de imagem, é a que vai prevalecer, por ser mais simples e rápida de ser feita e por originar resultados mais consistentes com a clínica. Faltam estudos de campo com formas clínicas mais leves da doença para que se chegue a uma conclusão final. Gerspacher-Lara et al. (1997), no Brasil, propuseram, para o diagnóstico diferencial, entre fígado normal e início de fibrose, que fossem interpostas medidas limites para a parede da veia porta principal e da veia porta ao nível da bifurcação, baseados no peso.

Tabela 8 – Formas clínicas da esquistossomose mansoni *versus* Padrão de Imagem

Padrão de Imagem	Forma HI (n=52)		Forma HE (n=280)	
Protocolo Niamey	N.	%	N.	%
B	2	4	0	0
C	24	46	0	0
D + DC	21	40	74	26
E + EC	4	8	168	60
F + FC	1	2	38	14
Idade (média ± SD)	37,3 ±16,9 anos		50,1 ± 12,8 anos	

Tabela 9 – Formas clínicas da esquistossomose mansoni *versus* Protocolo do Cairo

Grau fibrose	Forma HI (n = 52)		Forma HE (n = 280)	
Protocolo Cairo	N.	%	N.	%
1	41	79	50	18
2	9	17	198	71
3	2	4	32	11

Tabela 10 – Formas clínicas da esquistossomose mansoni *versus* Escore de Fibrose

PE-escore	Forma HI (n = 52)		Forma HE (n = 280)	
Grau	N.	%	N.	%
1	13	25	8	3
4	26	50	80	28
8	13	25	192	69

CORRELAÇÕES DO GRAU DE FIBROSE AVALIADO PELA USG

Estudos Epidemiológicos e Evolutivos

Os estudos epidemiológicos utilizando a USG na esquistossomose mansoni tiveram o objetivo de diagnosticar a gravidade da doença nas populações, por meio da presença de fibrose periportal e de manifestações de hipertensão portal. Além disso, permitiu-se realizar correlações entre intensidade de infecção com presença e grau de fibrose periportal, com presença de hepatomegalia e esplenomegalia e a evolução das alterações após o tratamento específico. Foram publicados vários trabalhos de revisão mostrando o valor da USG no diagnóstico epidemiológico e na evolução dos pacientes com esquistossomose mansoni (Jenkins & Hatz, 1992; Houston, 1991; Strickland & Abdel-Wahab, 1993; Richter, 2000).

Os primeiros a utilizar a USG na avaliação da fibrose periportal nas comunidades foram Homeida et al. (1988b), que concluíram ser a USG muito mais sensível que o exame clínico para se estimar a prevalência da fibrose periportal. Nesse trabalho, a presença de esplenomegalia mostrou-se mais freqüente nos pacientes

com fibrose periportal, particularmente naqueles com graus mais avançados. Este mesmo grupo mostrou não haver diferença entre a eficácia e tolerância do praziquantel em indivíduos com e sem fibrose periportal (Homeida et al., 1988c). Em um outro estudo, comparando três vilas no Suldão, uma, onde foram feitas medidas de controle e tratamento com praziquantel durante oito anos, com duas outras sem tratamento, verificou-se que a prevalência da fibrose periportal e de hepatoesplenomegalia avaliada pela USG foi duas a três vezes mais elevada nas vilas não tratadas (Homeida et al., 1988d). Abdel-Wahab et al. (1990), estudando 309 crianças no Egito, verificaram ser a USG mais sensível para detectar hepatoesplenomegalias, e observaram correlação entre o grau de infecção com a fibrose periportal e o tamanho do baço e do fígado. Doehring-Schwerdtfeger et al. (1992a), Lambertucci et al. (1996) e Gerspacher-Lara et al. (1997), em estudos epidemiológicos, chamaram a atenção para as discrepâncias observadas entre o diagnóstico clínico e o ultra-sonográfico de hepato e esplenomegalias e que a existência destas duas alterações não são indicadores confiáveis para se avaliar a morbidade da doença esquistossomótica e sim a avaliação da presença e intensidade da fibrose periportal pela USG. Os últimos autores, utilizando a classificação do Cairo juntamente com a de Managil, separaram os indivíduos em portadores de fibrose central (21%), periférica (38%) e mista, central + periférica (40%). A faixa etária dos portadores de fibrose periférica foi a menor, 24,1 anos, confirmando os achados patológicos de Andrade (1987), de que a fibrose da esquistossomose se inicia na periferia do fígado. A fibrose central, localizada apenas no tronco e na bifurcação da veia porta, foi encontrada em indivíduos com faixa etária bem maior, 45,7 anos. Esta fibrose parece ser um estágio residual da doença, encontrada em indivíduos anos após o tratamento específico ou após involução natural da mesma em pacientes com pequenas cargas parasitárias. Presença de esplenomegalia só foi encontrada nos pacientes com fibrose periférica (16%) e central + periférica (15%). Correlação entre carga parasitária e fibrose periférica só foi encontrada em crianças (Abdel-Wahab et al., 1990; Dohering-Schwerdtfeger et al., 1990; Houston et al., 1993) ou em adultos na faixa etária de 20-29 anos (Noorman et al., 1995; Boisier et al., 1995). A fibrose periportal começa a ser vista cinco anos após a faixa etária de maior prevalência da esquistossomose (Homeida et al., 1988b). A presença e intensidade de fibrose periportal foi sempre maior nos adultos que nas crianças (Noorman et al., 1995; Boisier et al., 1995; Kardorff et al., 1994). Stelma et al. (1997), fazendo o acompanhamento de população no Senegal recentemente infectada por *S. mansoni*, relataram aparecimento dos primeiros casos de esplenomegalia e fibrose periportal cinco anos após o surgimento de esquistossomose na região, confirmando trabalhos epidemiológicos, anteriores à era da USG, de Bina & Prata no Brasil (1984). Doehring-Schwedtfeger et al. (1992c) chamaram atenção para a presença de crianças com altas cargas parasitárias sem esplenomegalia nem fibrose periportal, lembrando que a fibrose periportal não depende apenas do grau de infecção, mas também de outros fatores, como a predisposição genética. Dessein et al. (1999) demonstraram a presença de dois genes que controlam a doença. Um, que chamou de SM1, localiza-se na região 5q31q33, que controla a susceptibilidade/resistência à infecção, provavelmente agindo na produção de citocinas, e um outro gene, SM2, não ligado ao mesmo lócus do SM1, que controla a progressão da doença, ou seja, a fibrogênese. A morbidade da doença na África difere em suas várias regiões, a despeito de condições epidemiológicas e parasitológicas semelhantes (Doehring-Schwerdtfeger & Kardorff, 1955). Há regiões como Egito, Sudão e Zimbábue, de alta morbidade, e locais, principalmente no oeste africano, como Mali e Richard Toll, de alta prevalência de infecção e baixa morbidade; talvez diferenças no padrão genético das populações expliquem esses fatos (Doehring-Schwerdtfeger & Kardorff, 1955).

Estudos Evolutivos após Tratamento da Esquistossomose

A regressão da fibrose periportal após tratamento e/ou interrupção da exposição não ocorre em todos os casos com a mesma intensidade. Há desde regressão espontânea das alterações, sem tratamento, até persistência da fibrose anos após o tratamento, mesmo sem haver reinfecções. Esta involução da doença depende de vários fatores, tais quais padrão genético do indivíduo, idade, carga parasitária inicial, tempo de exposição e intensidade da fibrose.

Homeida et al. (1988d), ao tratarem crianças e adultos no Sudão, observaram maior redução da fibrose periportal e da hepatoesplenomegalia no grupo etário entre dez e vinte anos. Já em 1991, Homeida et al., fazendo acompanhamento de crianças após o tratamento específico, verificaram redução da fibrose periportal em 58% das crianças, desaparecimento em 25%, não alteração em 17% e aumento em 6%, no fim do terceiro ano após o tratamento. A diminuição e desaparecimento da fibrose periportal foi mais freqüente nas crianças com fibrose graus 1 e 2.

Mohamed-Ali et al. (1991), acompanhando crianças sudanesas após sete meses do tratamento específico com praziquantel, verificaram redução na proporção de fibrose graus 2 e 3. As crianças abaixo de 11 anos apresentaram maior freqüência e grau de reversibilidade que as mais velhas. Doehring-Schwerdtfeger et al. (1992a), ao observarem essas mesmas crianças 23 meses após o tratamento, notaram diminuição da percentagem dos pacientes com fibrose, de 36,6% para 21,7%; com fibrose grau 2, de 21,1% para 4,3%; e com grau 3, de 5,9% para 0,3%. Também chamaram atenção para a não diminuição ou o aumento da fibrose em algumas crianças, observando que em 62% destas o exame parasitológico de fezes continuava positivo no 23º mês após o tratamento. Crianças na faixa etária acima de 15 anos apresentaram percentagem duas vezes maior de fibrose graus 2 e 3. Por último, Doehring-Schwerdtfeger et al. sugeriram que se repetisse o tratamento específico em crianças nas comunidades, de três em três anos, para se obter uma maior redução da morbidade. Homeida, El Toum & Magdi (1996) sugeriram repetir três cursos de tratamento nas comunidades para se obter melhor redução da morbidade hepatoesplênica.

Domingues, Dias & Cordeiro (1997), realizando seguimento de 87 pacientes adultos com esquistossomose hepatoesplênica por meio da USG e utilizando Protocolo do Cairo por tempo médio de 48 meses (14-99 meses) após o tratamento específico com oxamniquine, obtiveram diminuição da fibrose periportal e dos diâmetros das veias porta e esplênica e longitudinal do baço (Tabela 11).

Tabela 11 – Seguimento com USG de 87 pacientes com esquistossomose mansoni hepatoesplênica após tratamento específico

	Média da fibrose (cm)	Diâmetro da veia porta (cm)	Diâmetro da veia esplênica (cm)	Diâmetro longitudinal do baço (cm)
1º. exame	0,68 ± 0,14	1,41 ± 0,25	1,08 ± 0,32	17,10 ± 2,64
Último exame	0,61 ± 0,12	1,11 ± 0,28	0,89 ± 0,44	14,83 ± 4,13
p	0,0002	0,000001	0,028	0,049

Tempo do seguimento: 47,8 ± 17,9 meses (mínimo 14 e máximo 99 meses).

p = significância estatística.

Boisier et al. (1998) acompanharam com exames clínico, ultra-sonográfico e parasitológico 289 indivíduos de uma comunidade de Madagascar onde houve tratamento específico anual com praziquantel no período de 1993 a 1996. A USG mostrou diminuição da prevalência de fibrose periportal, naqueles indivíduos, de 28% para 10,3% a partir do segundo ano após tratamento. A reversão da fibrose foi maior nos indivíduos que apresentavam fibrose grau 1 no início do estudo e não se observou fibrose grau 3 nos últimos dois anos. Em um paciente houve desaparecimento da ascite durante o seguimento, associado a significante melhora da fibrose periportal. Os autores chamaram a atenção também para a melhora da morbidade com a repetição do tratamento com praziquantel, mesmo em doença com maior gravidade.

Com esquistossomose japônica há relatos de diminuição da fibrose periportal após o tratamento específico quando leve a moderada, não ocorrendo em pacientes com fibrose acentuada (Richter, 2000; Tanaka, 1992; Li et al., 2000).

USG na Avaliação da Hipertensão Portal na Esquistossomose Mansoni

Os estudos utilizando a USG na avaliação da hipertensão portal na esquistossomose mansoni foram principalmente clínicos e hospitalares e tiveram por objetivo: descobrir quais os principais achados da USG para o diagnóstico de hipertensão portal; correlacionar a intensidade da fibrose periportal com a presença e intensidade da hipertensão portal, quer avaliadas pelas medidas das pressões portais ou esplênicas quer pelos sinais ultra-sonográficos; e, em terceiro lugar, tentar predizer, de posse dos dados revelados pela USG, a intensidade da hipertensão porta e o risco de sangramento digestivo, a fim de se obter um método mais simples para selecionar os pacientes de maior risco de hemorragia digestiva nos quais medidas adicionais deverão ser usadas para evitar o primeiro sangramento ou sangramentos posteriores.

Relação entre o grau de fibrose periportal e o tamanho do baço e dos diâmetros das veias porta e esplênica foi encontrada em vários estudos (Domingues, 1998; Homeida et al., 1988b; Abdel-Wahab & Esmat, 1992; Medhat et al., 1988; Richter et al., 1992a). A maior freqüência das alterações relacionadas à hipertensão portal foram encontradas em homens na faixa etária de trinta a 39 anos (Noorman et al., 1995; Boisier et al., 1995; Saad et al., 1991). O aumento do diâmetro da veia esplênica mostrou ser a alteração mais sensível para o diagnóstico da hipertensão portal esquistossomótica (Domingues, 1998; Pinto da Silva et al., 1994; Richter et al., 1992b), inclusive sendo um fator de prognóstico inverso para uma boa resposta do tratamento das varizes do esôfago, por escleroterapia (Domingues et al., 1993; Jenkins & Hatz, 1992).

Massoud, Ghoneem & Massoud (1996), no Egito, trataram trinta pacientes com esquistossomose hepatoesplênica, sendo 15 com oxamniquine e 15 com praziquantel, e realizaram USG e medição da pressão esplênica transparietal antes e uma semana após o tratamento. Esses autores observaram haver relação entre o diâmetro da veia porta, medido pela USG, com a pressão esplênica, e aumento significativo dessas duas variáveis após o tratamento com praziquantel. Explicando estes resultados, os autores chamaram a atenção para a rapidez de ação do praziquantel: 72 horas após o tratamento os vermes já são encontrados mortos no fígado.

Davidson, Houston & Kiire (1991) realizaram USG em 62 pacientes consecutivos, atendidos com hemorragia digestiva alta, num hospital em Zimbábue. Destes, 46 pacientes apresentavam fibrose periportal esquistossomótica, e os demais apresentavam doença hepática crônica de outras etiologias. Os autores observaram maior freqüência de sangramento e menor incidência de ascite no grupo com fibrose periportal.

Saad et al. (1991), num estudo de campo em duas vilas de Gezira, Sudão, utilizaram a USG para detectar indivíduos com fibrose periportal, realizando nestes pesquisados endoscopia digestiva alta. Varizes de esôfago foram detectadas em 59% dos indivíduos, mas apenas 4% referiram episódios de sangramento digestivo alto. As varizes, em sua maioria, eram de fino calibre, e foram encontradas também varizes em pacientes com fibrose periportal leve. Houve correlação do grau de fibrose periportal com o grau de varizes do esôfago, fato também observado por Domingues et al. (1993). Richter et al. (1992a, 1992b) realizaram exame clínico, USG e endoscopia digestiva alta em pacientes do Brasil (n-27) e do Sudão (n-32), portadores de esquistossomose mansoni hepatoesplênica, com exame parasitológico de fezes positivo e não tratados da parasitose. Observaram haver correlação positiva entre o grau de fibrose periportal com os diâmetros das veias porta e esplênica, o calibre das varizes do esôfago e a presença de hemorragia digestiva. O diâmetro da veia porta corrigido pela altura dos pacientes foi um excelente indicador do risco de sangramento digestivo alto naqueles pacientes.

Pinto da Silva et al. (1994), no Brasil, realizaram USG em 66 pacientes com esquistossomose na forma hepatoesplênica, antes de serem submetidos à cirurgia para tratamento de hipertensão portal, com biópsia hepática, além da medida da pressão esplênica e esplenoportografia. Houve relação direta entre o diâmetro longitudinal do baço e o diâmetro da veia esplênica com a pressão esplênica. Os autores não observaram diferenças, na visualização da circulação colateral, entre a USG e a esplenoportografia.

Abdel-Wahab et al. (1992) estudaram 43 esquistossomóticas com forma hepatoesplênica, correlacionando a clínica com os achados ultra-sonográficos, e observaram correlação do grau de fibrose com a diminuição do tamanho do fígado, o aumento do baço, as alterações das enzimas séricas, os diâmetros das veias porta e esplênica e a presença de colaterais. Posteriormente, Abdel-Wahab & Esmat (1992), Abdel-Wahab & Strickland (1993) e Abdel-Wahab et al. (1993) criaram um escore ultra-sonográfico baseado em grau de fibrose, diâmetro da veia porta, tamanho do baço e presença de colaterais, a fim de predizer o risco de sangramento digestivo alto por varizes do esôfago (Tabela 12). O escore correlacionou-se com o calibre das varizes e o risco de sangramento digestivo ($r = 0,86$, $p = 0,001$). Nenhum parâmetro sonográfico isolado se correlacionou com o grau de varizes. Pacientes com escore de cinco ou sete estavam altamente predispostos a ter varizes de médio calibre ou maior e apenas os com escore de cinco ou mais tiveram hemorragia digestiva alta. Concluiu-se que a USG seria um método barato, simples, seguro e não invasivo de selecionar pacientes com esquistossomose hepatoesplênica para tratamento das varizes do esôfago.

Tabela 12 – Escore USG de avaliação da hipertensão portal e risco de HDA na EMHE

Parâmetros/Pontos	0	1	2	3
Grau fibrose	Ausente	Grau 1	Grau 2	Grau 3
Diâmetro da veia porta	Até 14 mm	14-17 mm	≥ 17,1 mm	—
Baço↓ RCE	Normal	≤ 5 cm	≥ 5,1 - 10,0 cm	≥ 10,1cm
Colaterais	Ausente	Presente	—	—

HDA = hemorragia digestiva alta;

EMHE = esquistossomose mansoni hepatoesplênica.

Fonte: Adaptado de Abdel-Wahab et al. (1992, 1993); Abdel-Wahab & Strickland (1993).

Sheth et al. (1996), na Índia, estudaram 101 pacientes portadores de hipertensão porta e observaram que a esplenomegalia teve alta precisão em predizer hipertensão porta e presença de varizes do esôfago; entretanto, não houve correlação entre o tamanho do baço e o grau de varizes do esôfago.

Richter et al. (1998), ao acompanharem cinqüenta pacientes com esquistossomose hepatoesplênica por tempo mínimo de 28 meses ou até apresentarem episódio de hemorragia digestiva alta, criaram também um escore sonográfico baseado no grau de fibrose periportal e no diâmetro da veia porta, corrigido pela altura do paciente. Encontrou-se correlação altamente significante entre este escore e o grau de varizes do esôfago, a ocorrência de episódios prévios de hemorragia e o risco de futuros sangramentos de varizes ($p < 0,0001$). Esse escore é calculado pela soma do escore de fibrose periportal, avaliada pela classificação de Managil (graus 0 e/ou 1 = 0; grau 2 = 1; grau 3 = 2), com o escore do grau de dilatação da veia porta (até 7,5 mm/m = 0; > 7,5-< 10 mm/m = 1; > 10 mm/m = 2 obtido pelo cálculo do diâmetro da veia porta em milímetros dividido pela altura do paciente, em metros). Escores 3 ou 4 foram associados com maior risco de HDA.

Domingues (1998) estudou 21 pacientes com esquistossomose hepatoesplênica e antecedentes de hemorragia digestiva alta realizando USG pelo Protocolo do Cairo, e durante cirurgia de tratamento da hipertensão portal foram realizadas biópsia hepática em cunha no lobo esquerdo e medida da pressão portal antes e após esplenectomia. Observou-se correlação entre o grau de fibrose periportal e os diâmetros das veias porta e esplênica e longitudinal do baço e também entre a pressão portal pré-esplenectomia e com o diâmetro da veia esplênica.

Tabela 13 – Correlação entre fibrose periportal e sinais ultra-sonográficos de hipertensão porta

Sinais USG de hipertensão porta	Grau de fibrose®	P
Diâmetro veia porta/altura	0,694	0,001
Diâmetro veia esplênica/altura	0,519	0,019
Diâmetro baço/altura	0,451	0,039

Ferraz et al. (2003) acompanharam, por um período de 24-38 meses, 111 pacientes com esquistossomose mansoni hepatoesplênica e antecedentes de hemorragia digestiva alta, antes submetidos à esplenectomia, ligadura da veia gástrica esquerda e desvascularização da grande curvatura do estômago seguida de escleroterapia endoscópica das varizes do esôfago. A recidiva hemorrágica no pós-operatório foi estatisticamente menor no grupo de pacientes com fibrose grau 1 (3,4%) que nos pacientes com fibrose graus 2 e 3 (18,3%). Naquele mesmo grupo observou-se relação do peso do baço com o grau do hiperesplenismo no pré-operatório e o calibre da veia porta avaliado pela USG. O peso do baço não se relacionou com o grau de fibrose periportal, nem com a recidiva hemorrágica e nem com a incidência de trombose da veia porta, no pós-operatório (Ferraz et al., 2002).

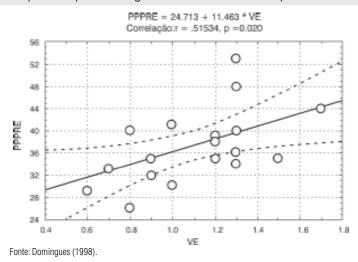



Gráfico 2 – Relação entre pressão portal cirúrgica e diâmetro da veia esplênica

Fonte: Domingues (1998).

Correlação da USG com outros Marcadores de Fibrose Hepática

Vários métodos não invasivos para avaliação do conteúdo de colágeno no tecido hepático têm sido discutidos em inúmeros trabalhos, com o intuito de observar o comportamento da fibrose hepática no seguimento dos pacientes após o tratamento de suas doenças fibrosantes (Aguiar et al., 1997; Oberti et al., 1997; Lu et al., 2003). Entre estes marcadores, têm se destacado o escore PGA (protrombina, gamaglutamil transpeptidase, apolipoproteína A-I), a dosagem do ácido hialurônico, da α_2-macroglobulina, do N-terminal peptídeo do procolágeno III e IV, da laminina, no soro, além da dosagem de hidroxiprolina na urina.

Lu et al. (2003), estudando duzentos pacientes com doença hepática crônica na China, observaram relação do grau e estágio da fibrose hepática avaliada por estudo de biópsia com marcadores séricos de fibrose pela USG, tomografia computadorizada e ressonância magnética.

Aguiar et al. (1997) observaram excreção urinária de hidroxiprolina significantemente mais elevada em pacientes com esquistossomose hepatoesplênica que em indivíduos normais. Este mesmo grupo observou correlação do grau de fibrose hepática avaliada pela USG com a excreção urinária de hidroxiprolina ($r = 0,386$, $p = 0,012$, teste de Spearman's) (Vasconcelos et al., 2003).

Kardorff et al. (1997) estudaram 1.695 habitantes de três vilas na Tanzânia por meio de avaliação clínica, USG e parâmetros bioquímicos de fibrose (Gama-GT, peptídeo sérico do procolágeno III e IV e fragmento P1 da laminina). Os autores observaram aumento nos níveis do procolágeno IV e gama-GT à medida que aumentava o grau de fibrose periportal avaliado pela USG utilizando tanto o Protocolo do Cairo como o de Managil. O mesmo grupo, ao analisar 206 indivíduos adultos (idade ≥ 18 anos) remanescentes do estudo anterior, com a mesma metodologia, verificaram que apenas o procolágeno IV correlacionou-se significantemente com a intensidade da fibrose periportal ($p < 0,001$), da esplenomegalia ($p < 0,002$), da dilatação da veia porta ($p < 0,004$) e da presença de circulação colateral ($p < 0,001$). Como a sensibilidade do procolágeno IV foi baixa (< 40%) e apesar de a especificidade ter se revelado alta (80%-90%), este marcador não poderá ser utilizado como marcador de fibrose em condições endêmicas, embora possa servir como parâmetro no seguimento dos pacientes tratados (Kardorff et al., 1999). Buchart et al. (1998) não encontraram

correlação dos níveis de procolágeno III, ácido hialurônico e laminina com presença de fibrose hepática leve em comunidade do Senegal recentemente infectada por *S. mansoni*, mostrando que os marcadores séricos de fibrose não são sensíveis para detectar a fibrose inicial da esquistossomose.

Pascal et al. (2000) observaram correlação do ácido hialurônico com o grau de fibrose hepática avaliada pela USG e com a elevação dos marcadores séricos de estresse oxidativo (peróxido lipídico e parbonyl-proteína). Levantaram a possibilidade de que o estresse oxidativo possa contribuir na patogênese da esquistossomose.

Köpke-Aguiar et al. (2002) avaliaram o ácido hialurônico como marcador sérico do curso da doença, relacionando-o com a USG e outros marcadores de fibrose (α_{2}-macroglobulina, protrombina, gama-GT e plaquetas). A dosagem do ácido hialurônico pôde separar os pacientes com forma hepatointestinal dos pacientes com forma hepatoesplênica e, estes, dos pacientes cirróticos.

Cordeiro da Silva (2006) correlacionou os níveis séricos do ácido hialurônico (AH) com os graus de fibrose periportal avaliados segundo os Protocolos do Cairo e de Niamey, em 61 pacientes portadores de esquistossomose mansoni. O valor do AH, em torno de 10,83 μg/l, foi capaz de distinguir pacientes com fibrose graus 2 e 3 daqueles com fibrose grau 1 e controles, pela classificação do Cairo (sensibilidade de 87,23% e especificidade de 83,34%). Utilizando o Protocolo de Niamey, o valor do AH em torno de 23,23 μg/l foi capaz de distinguir pacientes com fibrose graus C e D daqueles com graus E e F, com sensibilidade de 60% e especificidade de 65,38%.

Maciel (2006), ao estudar 122 pacientes com esquistossomose hepatoesplênica, não encontrou relação entre a elevação das enzimas canaliculares (fosfatase alcalina e gama-GT) com a média ou o padrão da fibrose periportal, segundo as classificações do Cairo e de Niamey. Também não observou relação dessas enzimas com marcadores ultra-sonográficos de hipertensão portal (diâmetros do baço, da veia esplênica e veia porta) nem com número de plaquetas. O autor concluiu que a USG não teve sensibilidade para detectar alterações dos ductos biliares, demonstradas em estudos histológicos e ultra-estruturais hepáticos, bem como na colangiografia endoscópica, provavelmente responsáveis pelas elevações da fosfatase alcalina e gama-GT na esquistossomose mansoni.

Ultra-som Associado ao Doppler na Esquistossomose Mansoni

A demonstração da presença de colaterais porto-sistêmicas nos pacientes com esquistossomose hepatoesplênica e episódios de sangramento digestivo é importante para ajudar a planejar o melhor tratamento da hipertensão portal. Processos invasivos, como angiografia e esplenoportografia, são considerados os métodos mais acurados para demonstrar as colaterais. Com o desenvolvimento da USG acoplada ao doppler (USG-doppler ou doppler-duplex), tornou-se possível documentar essas colaterais sem riscos adicionais para os pacientes. O doppler-duplex tem sido empregado na avaliação da hemodinâmica portal na esquistossomose hepatoesplênica, comprovando os achados angiográficos e possibilitando o seguimento de pacientes antes e após o tratamento cirúrgico (Cerri & Vezzozo, 1991; Vezzozo & Cerri, 1992). Tem sido demonstrado que o aumento do fluxo portal do esquistossomótico é mais decorrente do aumento do calibre do vaso do que do aumento da velocidade média (Vezzozo & Cerri, 1992), e que este fluxo e o calibre da veia porta diminuem após a esplenectomia (Brandt et al., 1995; Widman et al., 2001a). Em relação à artéria hepática, verificou-se aumento significativo do diâmetro e velocidade do fluxo após a esplenectomia (Brandt et al., 1995).

Widman et al. (2001b) observaram aumento do fluxo da veia porta principal e do ramo esquerdo nos pacientes com esquistossomose hepatoesplênica e recanalização da veia paraumbelical, e que há correlação dos fluxos da veia porta e do seu ramo esquerdo com o fluxo e o diâmetro da veia paraumbelical. Não encontraram alterações na circulação portal do lobo direito do fígado.

Moryasu descreveu o índice de congestão portal, ou seja, a relação entre o diâmetro da veia porta em cm^2 e a velocidade do fluxo portal medido pela USG-doppler em cm/s. Foi demonstrado que pacientes com esquistossomose hepatoesplênica sem antecedentes de sangramento digestivo apresentaram índice semelhante aos controles normais, mas os pacientes que sangraram tiveram um índice significantemente menor (Arruda, 1996).

Martins et al. (2000) estudaram quarenta pacientes com esquistossomose hepatoesplênica analisando parâmetros endoscópicos, ultra-sonográficos e de USG-doppler para estabelecer os melhores indicadores de risco de sangramento digestivo alto (HDA). Para isso os pacientes foram divididos em dois grupos, um com e outro sem antecedentes de HDA. Nenhum parâmetro da USG-doppler pôde diferenciar esses pacientes. Todos os parâmetros endoscópicos e o diâmetro da veia porta e grau de fibrose foram diferentes nos dois grupos. As combinações mais importantes relacionadas com sangramento digestivo prévio foram gastropatia e sinais vermelhos, seguidas do diâmetro da veia porta e do tamanho das varizes.

Lemos et al. (2003) estudaram com USG-doppler 23 pacientes com esquistossomose hepatoesplênica e antecedentes de HDA. Utilizaram diferentes técnicas do doppler para avaliar o volume do fluxo portal, que esteve aumentado com todas elas. O índice de congestão portal aumentou proporcionalmente ao aumento do diâmetro transverso da veia porta e inversamente com as alterações de velocidade do fluxo, tornando-se o indicador mais sensível para detectar a hipertensão portal na esquistossomose hepatoesplênica.

Evangelista Neto (2003) estudou em 34 pacientes com esquistossomose hepatoesplênica e antecedentes de HDA a velocidade de fluxo da veia porta, a pressão endoscópica das varizes do esôfago e seus calibres, antes, no pós-operatório imediato e no tardio (sexto mês) da esplenectomia com ligadura da veia gástrica esquerda. Observou diminuição da pressão das varizes de 22,3 ± 2,6 mmHg antes da cirurgia para 16,0 ± 3,0 mmHg no pós-operatório imediato e 13,3 ± 2,6 mmHg no pós-peratório tardio. O diâmetro da veia porta diminuiu de 14 ± 2,8 mm no pré-operatório para 10,8 ± 5,4 mm no sexto mês e a velocidade de fluxo da veia porta diminuiu de 29,5 ± 8,9 cm/s para 24,4 ± 4,7 cm/s no seguimento de seis meses ($p < 0,05$), mostrando a eficiência desse procedimento cirúrgico no controle tardio da hipertensão portal.

Alves Jr. et al. (2003) estudaram a relação entre o fluxo portal e o perfil hepático (albumina, transaminases, bilirrubina direta e indireta, fosfatase alcalina, e gama-GT e protrombina) em 64 pacientes com esquistossomose hepatoesplênica, sendo 19 não operados, 23 submetidos à desconexão ázigo-portal com esplenectomia (Dape) e 22 submetidos à anastomose esplenorrenal distal (Aerd). Houve correlação positiva entre o fluxo da veia porta e a dosagem da gama-GT; os outros testes hepáticos não se alteraram com a variação do fluxo portal. O aumento da gama-GT teve relação com elevação da fosfatase alcalina, sugerindo alteração da árvore biliar como fator desencadeante. Os autores levantaram ainda a possibilidade de que o aumento do fluxo e pressão no sistema portal intra-hepático possa contribuir nas alterações da árvore biliar, que é dependente da circulação arterial.

Por outro lado, Maciel (2006), após estudar, via dopplerfluxometria, 54 pacientes portadores de esquistossomose hepatoesplênica, divididos em quatro grupos (sem sangramento digestivo, n = 17; com sangramento recente por varizes do esôfago, n = 9; esplenectomizados, n = 20; e submetidos apenas a esclerose endoscópica das varizes, n = 8), não observou relação das enzimas canaliculares (fosfatase

alcalina, FA e gama-GT) com resultados do doppler nos quatro grupos de pacientes quando analisados isoladamente. Houve correlação inversa da FA ($r = 0,292$, $p = 0,032$) e da gama-GT ($r = 0,328$, $p = 0,016$) com velocidade do fluxo da veia porta no conjunto dos pacientes e correlação direta da FA com índice de congestão portal ($r = 0,277$, $p = 0,043$). Os pacientes com gama-GT elevada (acima de 1,5 vezes o limite superior da normalidade) apresentaram maior média do índice de congestão ($p < 0,008$). Esses resultados estão de acordo com os descritos anteriormente por Lemos et al. (2003), de que o índice de congestão portal seria um indicador mais sensível para detectar as alterações hemodinâmicas na esquistossomose.

O USG-doppler é um exame de simples execução, de baixo custo e não invasivo, entretanto é operador dependente, com grande variabilidade inter e intra-observadores, e depende de uma boa visibilidade dos vasos e da quantidade de gases intra-abdominal. Em futuro próximo, a angiorressonância magnética com gadolínio em terceira dimensão estará disponível e vai mostrar todo o sistema porta-mesentérico, a circulação colateral e a ocorrência de tromboses total ou parcial, ajudando no melhor planejamento do tratamento da hipertensão portal dos pacientes (Chamié et al., 2004), embora seja metodologia ainda pouco accessível e de alto custo.

A contribuição da USG no diagnóstico da morbidade da esquistossomose e no seguimento das alterações após o tratamento específico foi muito grande e tem demonstrado a necessidade de se modificar a classificação clínica da doença, fazendo se originar uma nova classificação clínico-ultra-sonográfica. Lambertucci et al. (2000), numa área endêmica de esquistossomose, realizaram exame clínico e USG, encontrando quatro grupos de indivíduos com forma mais avançada e os seguintes quadros:

- esplenomegalia + fibrose periportal avançada, forma HE clássica;
- esplenomegalia + fibrose periportal leve, que corresponderia aos pacientes mais jovens com doença evolutiva numa fase de esplenomegalia reacional, ainda sem hipertensão porta, ou a pacientes de forma HE com reabsorção da fibrose após o tratamento ou espontaneamente;
- fibrose periportal avançada sem esplenomegalia, correspondendo a pacientes com fibrose de Symmers sem esplenomegalia ou com baço levemente aumentado, mas não palpável. Esses casos seriam erroneamente classificados como hepatointestinais;
- indivíduos com esplenomegalia e sem fibrose periportal, eliminando ovos de *S. mansoni* nas fezes. Esses últimos indivíduos precisariam ser mais bem investigados para se afastar outras causas de esplenomegalia associadas antes de se atribuir o quadro a um estado reacional do baço num paciente ainda sem evidente comprometimento hepático. Lambertucci et al. (2000) chamam a atenção para a necessidade de melhor se classificar esses pacientes para evitar erros nos estudos epidemiológicos e imunológicos nas áreas endêmicas.

PERSPECTIVAS

Em primeiro lugar, é necessário chamar atenção para o fato de que a ultra-sonografia é uma importante ferramenta no diagnóstico e seguimento dos pacientes portadores de esquistossomose. Como ferramenta de diagnóstico a USG tem ajudado nas diversas áreas de pesquisa em esquistossomose, como na clínica, na epidemiologia, na imunologia. A USG tem ajudado no diagnóstico da doença, orientado na detecção dos casos de maior gravidade e facilitado o seguimento dos pacientes após o tratamento, demonstrando

se ou quando há regressão da fibrose periportal. Mas a avaliação clínica de cada caso continua sendo fundamental e insubstituível. Do mesmo modo, a USG não substitui a histologia. O diagnóstico histológico continua importante, sendo o padrão-ouro em que a USG se baseia. Só a histologia é capaz de avaliar a atividade da doença, mediante análise do infiltrado inflamatório, da presença de ovos e de granulomas.

A principal contribuição da USG talvez esteja na epidemiologia, ao indicar aos serviços de controle de cada região as áreas onde existem casos de maior gravidade, em que se deve ter mais atenção nas ações de controle da doença, além de mostrar os resultados obtidos após estas ações, como a diminuição da morbidade da doença.

A USG também contribui e vem contribuindo na clínica, no manejo dos pacientes, principalmente de forma hepatoesplênica com episódios de hemorragia digestiva alta, orientando a decidir qual a melhor conduta terapêutica para cada caso.

Após o advento da USG, tem sido sugerido alterar a classificação clínica da doença, criando-se uma classificação clínico-ultra-sonográfica mais completa para se evitar erros de diagnóstico como bem foi demonstrado por Lambertucci et al. (2000).

REFERÊNCIAS

ABDEL-LATIF, Z.; ABDEL-WAHAB, F. & EL-KADY, N. M. Evaluation of portal hypertension in cases of hepatosplenic schistosomiasis using ultrasound. *Journal of Clinical Ultrasound*, 9: 409-412, 1981.

ABDEL-WAHAB, M. F. & ESMAT, G. The value of ultrasonography in assessment of portal hypertension in hepatosplenic schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87(IV): 143-147, 1992.

ABDEL-WAHAB, M. F. & STRICKLAND, G. T. Abdominal ultrasonography for assessing morbidity from schistosomiasis: hospital studies. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 87: 135-137, 1993.

ABDEL-WAHAB, M. F. et al. Characteristic sonographic pattern of schistosomal hepatic fibrosis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 40: 72-76, 1989.

ABDEL-WAHAB, M. F. et al. Sonographic studies of school children in a village endemic for *Schistosoma mansoni. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 84: 69-73, 1990.

ABDEL-WAHAB, M. F. et al. Grading of hepatic schistosomiasis by the use of ultrasonography. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 46: 403-408, 1992.

ABDEL-WAHAB, M. F. et al. Ultrasonographic prediction of esophageal varices in schistosomiasis mansoni. *The American Journal of Gastroenterology*, 88: 560-563, 1993.

AGUIAR, J. L. et al. Hidroxiprolina urinária na forma hepatoesplênica da esquistossomose mansônica. *Anais da Faculdade Médicina Universidade Federal de Pernambuco*, 42: 38-42, 1997.

ALI, Q. M. et al. Ultrasonographic evaluation of gallblader fuction in patients with *Schistosoma mansoni* infection. *Tropical Doctor*, 20(3): 113-115, 1990.

ALVES JR., A. et al. Hipertensão portal esquistossomática: influência do fluxo sangüíneo portal nos níveis séricos das enzimas hepáticas. *Arquivos de Gastroenterologia*, 40(4): 203-208, 2003.

ANDRADE, Z. A.O fígado esquistossomático. *Arquivos Catarinenses de Medicina*, 13: 53-57, 1984.

ANDRADE, Z. A. Patogenesis of pipe-stem fibrosis of the liver: experimental observation of murine schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82: 325-334, 1987.

AROUCHA, D. C. B. L. et al. Perivesicular fibrosis in schistosomiasis mansoni. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SCHISTOSOMIASIS, 8, Recife, Abstract Book. *Anais...* Recife, 2001.

ARRUDA, S. M. B. *Doppler Fluxometria Portal em Esquistossomóticos com e sem Hemorragia Digestiva*, 1996. Dissertação de Mestrado, Recife: Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

BARATA, C. H.; PINTO-SILVA, R. A. & LAMBERTUCCI, J. R. Abdominal ultrasound in acute schistosomiasis mansoni. *The British Journal of Radiology*, 72: 949-952, 1999.

BINA, J. C. & PRATA, A. A evolução natural da esquistossomose em uma área endêmica. In: PRATA, A. R. et al. *Aspectos Peculiares da Infecção por* Schistosoma mansoni. Salvador: Centro Didático e Editorial da Universidade Federal da Bahia, 1984.

BOISIER, P. et al. Ultrasonographical assessment of morbidity in schistosomiasis mansoni in Madagascar: a community – based study in a rural population. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 89: 208-212, 1995.

BOISIER, P. et al. Reversibility of *Schistosoma mansoni* associated morbidity after yearly mass praziquantel therapy: ultrasonographic assessment. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 92: 451-453, 1998.

BRANDT, C. T. et al. Surgical hepato-splenic schistosomiasis in children: a Doppler duplex study of the portal vein and the hepatic artery. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 89: 70-77, 1995.

BUCHART, G. D. et al. *Schistosoma mansoni* infection in a recently exposed community in Senegal: lack of correlation between liver morphology in ultrasound and connective tissue metabolites in serum. *Tropical Medicine & International Health*, 3(3): 234-241, 1998.

CAZIER, P. R. & SPONAUGLE, D. W. 'Starry sky' liver with fasting: variations in Glycogen stores? *Journal of Ultrasound in Medicine*, 15: 405-407, 1996.

CERRI, G. G. & VEZZOZO, D. P. Contribuição da ultra-sonografia ao diagnóstico da forma hepatoesplênica. In: CASTRO, L. P.; ROCHA, P. R. S. & CUNHA, A. S. *Tópicos em Gastroenterologia*. Rio de Janeiro: Medsi, 1991. v. 2

CERRI, G. G.; ALVES, V. A. F. & MAGALHÃES, A. Hepatosplenic schistosomiasis mansoni: ultrasound manifestations. *Radiology*, 153: 777-780, 1984.

CHAMIÉ, L. P. et al. Aspectos morfológico-vasculares da esquistossomose mansônica hepatoesplênica: análise por ressonância magnética e angioressonância do sistema porta. In: JORNADA PAULISTA DE RADIOLOGIA, 34, 2004. São Paulo. *Anais...* São Paulo, 2004.

CORDEIRO DA SILVA, C. C. C. *Níveis Séricos de Ácido Hialurônico como Marcador de Fibrose Hepática em Pacientes Portadores de Esquistossomose Mansônica*, 2006. Dissertação de Mestrado, Recife: Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

COUTINHO, A. A new dynamic approach to the diagnosis of Symmers Fibrosis in schistosomiasis by ultrasound. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 32: 73-77, 1990.

DAVIDSON, R. N.; HOUSTON, S. & KIIRE, C. F. Schistosomal periportal fibrosis in Zimbabwe: use of ultrasound in patients with oesophageal varices. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 85: 380-382, 1991.

DESSEIN, A. J. et al. Infection and disease in human schistosomiasis mansoni are under distinct major gene control. *Microbes and Infection*, 1: 561-567, 1999.

DIMMETTE, R. M. Liver bipsy in clinical schistosomiasis. Comparison of wedge and needle types. *Gastroenterology*, 29: 219-234, 1955.

DOEHRING-SCHWERDTFEGER, E. & KARDORFF, R. Ultrasonography in schistosomiasis in Africa. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90: 141-145, 1955.

DOHERING-SCHERDTFEGER, E. et al. Sonomorphological abnormalities in sudanese children with *Schistosoma mansoni* infections: a proposed staging-system for field diagnosis of periportal fibrosis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 41: 61-69, 1989.

DOHERING-SCHWERDTFEGER, E. et al. Ultrasonographical investigation of periportal fibrosis in children with *Schistosoma mansoni* infection: evaluation of morbidity. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 42: 581-586, 1990.

DOEHRING-SCHWERDTFEGER, E. et al. Ultrasonographical investigation of periportal fibrosis in children with *Schistosoma mansoni* infection: reversibility of morbidity twenty-three months after treatment with praziquantel. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 46: 409-415, 1992a.

DOEHRING-SCHWERDTFEGER, E. et al. Ultrasound versus clinical examination as indication for *Schistosoma mansoni* associated morbidity in children. *Tropical Medicine and Parasitology*, 43: 245-248, 1992b.

DOMINGUES, A. L. C. *Ultra-sonografia na Esquistossomose Mansônica Hepato-esplênica: avaliação da intensidade da fibrose periportal e da hipertensão porta*, 1998. Tese de Doutorado, Recife: Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

DOMINGUES, A. L. C.; DIAS, H. S. & CORDEIRO, F. Ultrasound evaluation of periportal fibrosis in human hepatosplenic schistosomiasis after specific treatment. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SCHISTOSOMIASIS, 4, 1997, Rio de Janeiro, Abstract Book. *Anais...* Rio de Janeiro, 1997.

DOMINGUES, A. L. C. et al. An ultrasonographic study of liver fibrosis in patients infected with *Schistosoma mansoni* in northeast Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 81: 555-558, 1993.

EVANGELISTA NETO, J. *Esplenectomia e Ligadura da Veia Gástrica Esquerda na Esquistossomose Mansônica: efeitos sobre pressão das varizes do esôfago, indicadores endoscópicos e dopplerfluxometria portal*, 2003. Tese de Doutorado, Recife: Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

FERRAZ, A. A. B. et al. Peso do baço como fator prognóstico do tratamento cirúrgico de pacientes portadores de esquistossomose mansônica. *Revista Colégio Brasileiro deCirurgia*, 29(1): 29-35, 2002.

FERRAZ, A. A. B. et al. The influence of periportal (pipestem) fibrosis on long term results of surgical treatment for schistosomotic portal hypertension. *Arquivos de Gastroenterologia*, 40: 4-10, 2003.

FRIIS, H. et al. Ultrasonography assessment of *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* morbidity in zimbabwean school children. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 55: 290-294, 1996.

GERSPACHER-LARA, R. et al. Ultrasonography of periportal fibrosis in schistosomiasis mansoni in Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 91: 307-309, 1997.

HATZ, C. et al. A review of the literature on the use of ultrasonography in schistosomiasis with special reference to its use in fields studies. 2. *Schistosoma mansoni. Acta Tropica*, 51: 15-28, 1992.

HOFFMAN, H. et al. Morbidity of schistosomiasis mansoni in the highlands of Madagascar and comparison of current sonographical classification systems. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 95: 623-629, 2001.

HOMEIDA, M. A. et al. Diagnosis of pathologically confirmed Symmers periportal fibrosis by ultrasonography: a prospective blinded study. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 38: 86-91, 1988a.

HOMEIDA, M. A. et al. Morbidity associated with *Schistosoma mansoni* infection as determined by ultrasound: a study in Gezira, Sudan. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 39: 196-201, 1988b.

HOMEIDA, M. A. et al. Efficacy and tolerance of praziquantel in patients with *Schistosoma mansoni* infection and Symmers fibrosis: a field study in Sudan. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 38: 496-498, 1988c.

HOMEIDA, M. A. et al. Effect of antischistosomal chemotherapy on prevalence of Symmers periportal fibrosis in sudanese villages. *The Lancet*, 20: 437-440, 1988d.

HOMEIDA, M. A. et al. Association of the therapeutic activity of praziquantel with the reversal of Symmer's fibrosis induced by *Schistosoma mansoni. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 45: 360-365, 1991.

HOMEIDA, M. A.; EL TOUM, I. & MAGDI, M. A. The effectiveness of annual versus biennial mass chemotherapy in reducing morbidity due to schistosomiasis: a prospective study in Gezira-Managil, Sudan. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 54: 140-145, 1996.

HOUSTON, S. Ultrasound: appropiate technology for tropical field work. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 85: 321-323, 1991.

HOUSTON, S. W. et al. Use of ultrasound in a study of schistosomal periportal fibrosis in rural Zimbabwe. *Acta Tropica*, 53: 51-58, 1993.

JENKINS, J. M. & HATZ, C. The use of diagnostic ultrasound in schistosomiasis attempts at standardization of methodology. The Cairo working group. *Acta Tropica*, 51: 45-63, 1992.

KARDORFF, R. et al. Lack of ultrasonographic evidence for severe hepatosplenic morbidity in schistosomiasis mansoni in Mali. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 5: 190-197, 1994.

KARDORFF, R. et al. Ultrasonography in a senegalese community recently exposed to *Schistosoma mansoni* infection. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 54(6): 586-590, 1996.

KARDORFF, R. et al. *Schistosoma mansoni* related morbidity on Ukerewe Island, Tanzania: clinical, ultrasonographical and biochemical parameters. *Tropical Medicine & International Health*, 2(3): 230-239, 1997.

KARDORFF, R. et al. Diagnostic value of conective tissue metabolites in *Schistosoma mansoni* related liver disease. *Acta Tropica*, 73(2): 153-164, 1999.

KÖPKE-AGUIAR, L. A. et al. Serum hyaluronic acid as a comprehensive marker to assess severity of liver disease in schistosomiasis. *Acta Tropica*, 84: 117-126, 2002.

LAMBERTUCCI, J. R. et al. Acute Manson's schistosomiasis:sonographic features. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 88: 76-77, 1994.

LAMBERTUCCI, J. R. et al. O projeto Queixadinha: a morbidade e o controle da esquistossomose em área endêmica no nordeste de Minas Gerais, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 29: 127-135, 1996.

LAMBERTUCCI, J. R. et al. Hepatoesplenic schistosomiasis in field-based studies: a combined clinical and sonographic definition. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 147-150, 2001.

LAMBERTUCCI, J. R. et al. *Schistosoma mansoni*: assessment of morbidity befre and after control. *Acta Tropica*, 77: 101-109, 2000.

LEMOS, R. S. et al. Dopplerfluxometria em portadores de esquistossomose hepatoesplênica (EHE): aspectos técnicos relacionados ao cálculo do fluxo sanguíneo portal e índice de congestão. *Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva*, 16(3): 134-138, 2003.

LI, Y. S. et al. Two-year impact of Praziquantel treatment for *Schistosoma japonicum* infection in China: re-infection, subclinical disease and fibrosis marker measurements. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 94: 191-197, 2000.

LU, L. G. et al. Grading and staging of hepatic fibrosis and its relationship with noninvasive diagnostic parameters. *World Journal of Gastroenterology*, 9(11): 2.574-2.578, 2003.

MACIEL, R. C. R. *Enzimas Canaliculares na Forma Hepatoesplênica da Esquistossomose Mansônica*, 2006. Dissertação de Mestrado, Recife: Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

MARTINS, R. D. et al. Endoscopic, ultrasonographic and US-Doppler parameters as indicators of variceal bleeding in pacients with schistosomiasis. *Digestive Diseases and Sciences*, 45(5): 1.013-1.018, 2000.

MASSOUD, A. M.; GHONEEM, M. & MASSOUD, M. Effect of oxamniquine and praziquantel on intrasplenic pressure and portal vein diameter in hepatosplenic schistosomiasis. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 16: 427-437, 1996.

MEDHAT, A. et al. Ultrasonographic findings with bleeding and nonbleeding esophageal varices. *The American Journal of Gastroenterology*, 83: 58-63, 1988.

MOHAMED-ALI, Q. et al. Ultrasonografical investigation of periportal fibrosis in children with *Schistosoma mansoni* infection: reversibility of morbidity seven months after treatment with praziquantel. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 44: 444-451, 1991.

NOORMAN, Z. M. et al. The use and limitations of ultrasonography in the diagnosis of liver morbidity atributable to *Schistosoma mansoni* infection in community-based surveys. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90: 147-154, 1995.

OBERTI, F. et al. Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis or cirrhosis. *Gastroenterology*, 113: 1.609-1.616, 1997.

PASCAL, M. et al. Hyaluronate levels and markers of oxidative stress in the serum of Sudanese subjects at risk of infection with *Schistosoma mansoni. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 94: 66-70, 2000.

PEREIRA, L. M. M. B. et al. Ultrasonography of the liver and spleen in brasilian patients with hepatosplenic shistosomiasis and cirrhosis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 92: 639-642, 1998.

PINTO DA SILVA, R. A. et al. Sonographic features of portal hypertension in schistosomiasis mansoni. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 36: 355-361, 1994.

POLAK, M. et al. Schistosomiasis mansoni pathological changes in the liver in differents stages of the disease studied by means of laparoscopy and needle biopsy. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 1: 18-40, 1959.

RABELLO, A. L. T. et al. Abdominal ultrasonography in acute clinical schistosomiasis mansoni. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 50(6): 748-752, 1994.

RICHTER, J. et al. Sonographic organometry in brazilian and sudanese patients with hepatosplenic schistosomiasis mansoni and its relation to the risk of bleeding from oesophageal varices. *Acta Tropica*, 51: 281-290, 1992a.

RICHTER, J. et al. Hepatosplenic schistosomiasis: comparison of sonographic findings in brazilian and sudanese patients. Correlation of sonographic findings with clinical symptoms. *Radiology*, 184: 711-716, 1992b.

RICHTER, J. et al. Sonographic prediction of variceal bleeding in patients with liver fibrosis due to Schistosoma mansoni. *Tropical Medicine & International Health*, 3(9): 728-735, 1998.

RICHTER, J. Evolution of schistosomiasis- induced pathology after theraphy and interruption of exposure to schistosomes: a review of ultrasonographic studies. *Acta Tropica*, 77: 111-131, 2000.

RICHTER, J. et al. Report of the second satellite symposium on ultrasound in schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96(1): 151-156, 2002.

ROCHA, R. S. et al. Abdominal ultrasonography in patients with schistosomiasis mansoni in an endemic area of Minas Gerais state. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SCHISTOSOMIASIS, 4, 1993, Rio de Janeiro, Abstract Book. *Anais...* Rio de Janeiro, 1993.

SAAD, A. M. A. et al. Oesophageal varices in a region of Sudan endemic for *Shistosoma mansoni*. *The British Journal of Surgery*, 78: 1.252-1.253, 1991.

SHETH, S. G. et al. Evaluation of splenomegaly in portal hypertension. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 22: 28-30, 1996.

STELMA, S. S. et al. Four year's follow-up of hepatosplenic morbidity in a recent emerged focus of *Schistosoma mansoni* in northern Senegal. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 91: 29-30, 1997.

STRICKLAND, G. T. & ABDEL-WAHAB, M. F. Abdominal ultrasonography for assessing morbidity from schistosomiasis: communnity studies. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 87: 132-134, 1993.

TANAKA, M. Mini review: the ultrasonographycal and sorological changes and their improvement after praziquantel treatment in Schistosomal japonicum infected patients in Leyete, Philippines. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87: 277-280, 1992.

THOMAS, A. K. et al. Evaluation of ultrasonographic staging systems for the assessment of *Schistosoma mansoni* induced hepatic involvement. *Acta Tropica*, 68: 347-356, 1997.

VASCONCELOS, M. M. et al. Excreção urinária de hidroxiprolina e grau de fibrose hepática pela ultra-sonografia em pacientes esquistossomóticos. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SCHISTOSOMIASIS, 9, 2003, Salvador, Abstract Book. *Anais...* Salvador, 2003.

VEZZOZO, D. C. P. & CERRI, G. G. Duplex hemodinamic evaluation of hepatosplenic mansoni schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87(VI): 149-151, 1992.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Proposal for a practical guide to the standardized use of ultrasound in the assessment of pathological changes. In: MEETING ON ULTRASONOGRAPHY IN SCHISTOSOMIASIS, 1-4 out. 1990, Cairo, *Anais...* Cairo, 1993.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Ultrasound in schistosomiasis. In: INTERNATIONAL WORKSHOP, 2, 22-26 out. 1996, Niamey. *Anais...* Niamey, 1996.

WIDMAN, A. et al. Veia paraumbelical pérvia: importância hemodinâmica na hipertensão portal por esquistossomose mansônica hepatoesplênica. (Estudo com ultra-sonografia Doppler). *Arquivos de Gastroenterologia*, 38(4): 221-226, 2001a.

WIDMAN, A. et al. Hipertensão portal por esquistossomose mansônica: efeito de desconexão ázigo portal com esplenectomia (DAPE) no diâmetro e na velocidade média de fluxo do sistema portal(estudo ultra-sonográfico com Doppler). *Arquivos de Gastroenterologia*, 38(1): 19-23, 2001b.

YAZDANPANAH, Y. et al. Organometric investigations of the spleen and liver by ultrasound in *Schistosma mansoni* endemic and non endemic villages in Senegal. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 57: 245-249, 1997.

PARTE VI

Epidemiologia e Controle

33 Epidemiologia e Controle da Esquistossomose Mansoni

Constança Simões Barbosa
Tereza Cristina Favre
Ronaldo S. Amaral
Otávio Sarmento Pieri

Transmissão peridomiciliar da esquistossomose em comunidade urbana sem saneamento na Região Metropolitana de Recife, Pernambuco, mostrando a contaminação de um criadouro de *Biomphalaria glabrata* com dejetos lançados diretamente das moradias.

A epidemiologia é o campo da atividade científica que analisa o processo saúde-doença a partir dos fatores e eventos biológicos, ecológicos, ambientais, históricos e políticos que são determinantes da sua ocorrência. Uma das possibilidades da análise epidemiológica é esclarecer a causalidade dos agravos à saúde, considerando os componentes sociais, culturais e biológicos como um elenco de determinação do adoecer.

Este capítulo trata da epidemiologia e do controle da esquistossomose a partir dos aspectos macroepidemiológicos, discutindo os elementos sociais e culturais que modulam a manutenção e reprodução da endemia, e dos aspectos microepidemiológicos, evidenciados no nível local de ocorrência da doença, ressaltando aqueles de ordem biológica e ecológico-ambiental. É feito um histórico das estratégias recomendadas para o controle da esquistossomose pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e dos programas de controle implementados pelo ministério da saúde no Brasil, procurando adequar as estratégias de diagnóstico e tratamento recomendadas por esses dois órgãos ao cenário ecoepidemiológico da área endêmica do Nordeste.

ESQUISTOSSOMOSE: DOENÇA E ENDEMIA

As abordagens para se compreender e analisar as doenças endêmicas como a esquistossomose não devem ser excludentes. A primeira se refere ao processo do adoecer, ou seja, à construção (causas) do processo endêmico, que só pode ser entendido se considerados os elementos históricos, socioeconômicos e culturais que o determina. A segunda abordagem remete ao nível microambiental onde o homem vive e trabalha e onde são evidenciados os elementos finais (efeitos) responsáveis pelo seu adoecer.

Na primeira abordagem, a esquistossomose é entendida como 'endemia', com todo um processo histórico de formação sobre o qual os elementos biológicos, sociais e culturais agiram conjuntamente, ao longo do tempo, para que a doença pudesse se expressar em níveis endêmicos. Nessa perspectiva, o controle da esquistossomose vai além da intervenção imediata sobre os efeitos, mediante ações curativas. É preciso que se aja sobre as causas que mantêm a estrutura epidemiológica, por meio de políticas públicas que priorizem a melhoria das condições de vida e de saúde das populações atingidas pela doença. Na segunda abordagem, as ações são voltadas para intervenções imediatas na forma de ações curativas nos doentes ou intervenções emergenciais no meio ambiente, que são necessárias para minimizar o agravo da doença nos indivíduos.

Assim, a esquistossomose pode ser analisada e controlada de formas diversas. Para a clínica médica, a esquistossomose é definida como 'doença', possui causalidade etiológica e modelo biológico de transmissão. É uma doença parasitária causada por um trematódeo – *Schistosoma mansoni* – e seu diagnóstico se limita ao indivíduo, com base em exames parasitológicos, clínicos e laboratoriais.

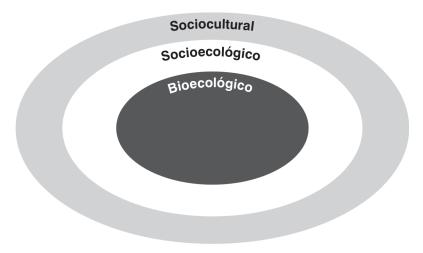
O modelo biológico envolve a contaminação de coleções hídricas por fezes de indivíduos infectados contendo 'ovos' de *S. mansoni* (Figura 1). Essa contaminação pode ocorrer em função do ato de se defecar próximo às margens de rios, córregos, lagoas e açudes, prática comum nas populações rurais, ou por despejo direto dos dejetos nas coleções hídricas dulcícolas. Seja qual for a forma de contaminação, ela se dá onde não há rede adequada de esgotamento sanitário. Ao chegarem na água com as fezes, os ovos do parasito eclodem e cada um libera uma larva ciliada denominada 'miracídio', que nada ativamente, penetrando nos hospedeiros intermediários representados por caramujos do gênero *Biomphalaria*. Nos tecidos do caramujo, os miracídios sofrem transformações, dando origem aos 'esporocistos primários', que posteriormente se desenvolverão em 'esporocistos secundários'. Estes darão origem ao último estágio larvar no caramujo, as cercárias. Decorridos 28 dias, em média, da penetração dos miracídios, as cercárias maduras rompem os tecidos dos caramujos e chegam ao ambiente aquático, onde nadam ativamente e, ao entrarem em contato com o hospedeiro definitivo, representado pelo homem, penetram em sua pele e/ou mucosa. Nesse momento, elas perdem a cauda e passam a se chamar 'esquistossômulos', que caem na corrente sanguínea e são arrastados passivamente para o coração, pulmões e fígado. No sistema porta intra-hepático, os esquistossômulos crescem e amadurecem, se transformando em 'vermes adultos'. Machos e fêmeas se acasalam e migram para as veias mesentéricas do intestino, onde as fêmeas põem seus 'ovos'. Cerca de metade desses ovos chega à cavidade intestinal e junto com as fezes são expulsos no ambiente; a outra metade chega aos diferentes órgãos, principalmente ao fígado, levada pelo fluxo sanguíneo, podendo provocar a formação de granulomas periovulares.

Figura 1 – Ciclo biológico de *Schistosoma mansoni*, mostrando os diferentes estágios de desenvolvimento nos hospedeiros naturais e o ambiente no qual cada estágio ocorre

Fonte: adaptada de Ross et al. (2002).

Para a epidemiologia a diferença entre doença e endemia é definida a partir da análise das características espaciais e temporais que definem um determinado agravo à saúde. A esquistossomose é considerada endemia, pois acomete ampla faixa de populações sob riscos específicos, há um longo tempo. A epidemiologia procura conhecer os vários níveis de causalidade de ocorrência da esquistossomose, considerando-a uma doença com forte determinação social e cultural, além da biológica. A epidemiologia quantitativa possui metodologias e instrumentos apropriados para mensurar os fatores de risco que condicionam a infecção dos indivíduos e a expressão da doença no coletivo. A epidemiologia social

utiliza métodos qualitativos de análise para conhecer os aspectos históricos e culturais (comportamento e crenças de risco) que possam estar relacionados à manutenção e reprodução da endemia. Assim, o modelo epidemiológico da esquistossomose pode ser representado pela conjunção e intersecção dos diferentes níveis de casualidade que determinam sua ocorrência (Figura 2).

Figura 2 – Modelo epidemiológico esquemático mostrando os diferentes níveis de causalidades envolvidos na produção e reprodução da esquistossomose

CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL E TRANSMISSÃO DA ESQUISTOSSOMOSE

Para que o ciclo biológico do parasito *S. mansoni* se complete e a transmissão da esquistossomose se instale em determinada área é necessária uma conjunção de fatores:

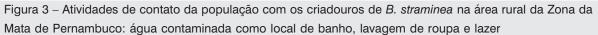
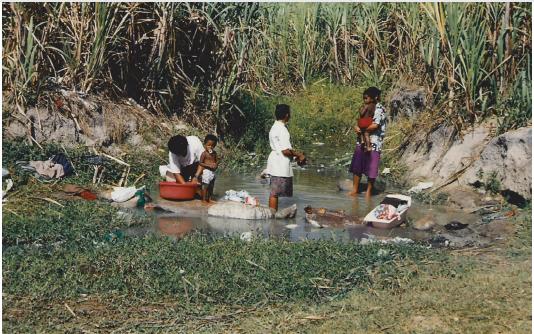
- pessoas parasitadas, que são a fonte de infecção;
- contaminação fecal de coleções de água doce colonizadas pelos caramujos do gênero *Biomphalaria*;
- contatos humanos com as coleções de água doce onde existam caramujos infectados.

A contaminação fecal dos ambientes aquáticos dulcícolas é o principal componente do processo de transmissão da esquistossomose e de outras parasitoses de veiculação hídrica. Portanto, é nessa etapa do ciclo de transmissão que as ações de controle teriam um efeito mais eficaz e duradouro, impedindo o parasito de chegar ao ambiente aquático e, portanto, inviabilizando seu desenvolvimento biológico. Com isso não haveria risco de infecção para ambos, caramujo e homem. Embora esta constatação possa parecer óbvia, as intervenções que visam impedir a contaminação fecal do meio ambiente são extremamente complexas, envolvendo fatores ligados às práticas culturais, ao estilo e condições de vida de determinadas populações.

Existem, pelo menos, duas vias clássicas de contaminação fecal dos ambientes aquáticos:

- Individual: ocorre quando as pessoas defecam ao ar livre e as fezes são carreadas pelas chuvas, atingindo as coleções d'água. Esta é uma prática fortemente enraizada na cultura rural, devido à histórica carência de saneamento, abastecimento de água e de informação. Nas áreas rurais, os

indivíduos dependem das águas naturais, representadas por rios, córregos, lagoas, canais de irrigação, para exercer atividades domésticas (lavagem de roupas e louças), higiênicas (banho), econômicas ou de subsistência (pesca e/ou prática agrícola) e de lazer, assim como para a drenagem e eliminação dos dejetos orgânicos (Figura 3). Essa via de contaminação pode ser interrompida, ou pelo menos reduzida, mediante implementação de ações de educação em saúde, porém, como todo comportamento interiorizado por longo tempo, é de difícil remodelagem.

Figura 3 – Atividades de contato da população com os criadouros de *B. straminea* na área rural da Zona da Mata de Pernambuco: água contaminada como local de banho, lavagem de roupa e lazer

- Coletiva: ocorre quando o resíduo de esgotos residenciais é diretamente lançado nas coleções hídricas. Esta é uma prática coletiva de ocorrência usual em localidades periurbanas e/ou favelizadas, cujas populações não têm acesso à rede de esgotamento sanitário (Figura 4). Nessas localidades, a drenagem das águas servidas e dos dejetos são feitas diretamente para canais abertos ao redor do peridomicílio, onde os caramujos vetores se criam e se infectam. Por ocasião das chuvas, esses canais transbordam e os caramujos, então infectados, são transportados passivamente para as ruas, formando pequenos focos de transmissão, onde as pessoas se infectam acidentalmente pelo simples contato com as águas empoçadas. Essa via de contaminação pode ser corrigida pela ação pública, com medidas de saneamento ambiental representadas, em muitas situações, por pequenas obras de engenharia sanitária (Figura 5).

As duas vias de contaminação fecal, individual e coletiva, antes discutidas proporcionam riscos de transmissão da infecção para pessoas que dependem diretamente dessas águas para suas atividades diárias ou mesmo para outras que as utilizam esporadicamente para diferentes finalidades.

Figura 4 – Esgotos residenciais diretamente lançados em canal (Vila Dom Hélder, Jaboatão dos Guararapes, PE) que irá contaminar as coleções hídricas naturais

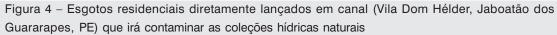



Figura 5 – Ação de controle da esquistossomose em Natuba, Vitória de Santo Antão, Pernambuco

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL E EPIDEMIOLÓGICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI

As formas clínicas da esquistossomose se assemelham a muitas outras doenças; portanto, essa inespecificidade e a variação nos sintomas dificultam o seu diagnóstico apenas pelo exame clínico do paciente. Por esse motivo, o diagnóstico definitivo é dado por exames laboratoriais, que podem ser feitos por métodos diretos, ou seja, que detectam a presença de ovos de *S. mansoni* nas fezes ou tecidos, ou por intermédio de métodos indiretos, que se baseiam em mecanismos imunológicos. O método direto de Kato-Katz (Katz, Chaves & Pellegrino, 1972) é oficialmente empregado nos programas de controle e desde a década de 1970 tem sido recomendado pela OMS para o diagnóstico da doença. Ele consiste no exame, ao microscópio, de uma quantidade fixa de matéria fecal, permitindo um diagnóstico semiquantitativo, baseado na contagem de ovos. Essa contagem de ovos é uma medida indireta útil da carga parasitária do indivíduo.

No nível individual, o diagnóstico em pacientes que chegam à rede de saúde é feito fundamentado na história e na rotina do paciente, buscando informações sobre se reside em área endêmica ou se relata contato com águas de focos de transmissão. Esse procedimento orienta o diagnóstico, que deverá ser confirmado por exame parasitológico de fezes. No indivíduo, a contagem de ovos fornece uma boa estimativa do quanto sua saúde está comprometida e ajuda a estabelecer condutas adequadas de tratamento da infecção.

No nível coletivo, o diagnóstico da esquistossomose em uma determinada comunidade é realizado por meio de inquéritos epidemiológicos. Esses inquéritos são estudos com intuito de levantar as condições de morbidade por uma causa específica, no caso em questão a esquistossomose, mediante diagnóstico numa amostra representativa da comunidade ou na sua população inteira, definida e localizada no tempo e no espaço (Rouquayrol & Almeida Filho, 2003). A estimativa da carga parasitária numa comunidade também permite estabelecer um juízo quanto à necessidade de medidas de intervenção. O diagnóstico das condições de morbidade da esquistossomose em uma população pode ser realizado por intermédio de exames parasitológicos de fezes para detectar os casos positivos, as cargas parasitárias e a intensidade da infecção na população-alvo e de exames clínicos e sorológicos para identificar as formas clínicas predominantes na população.

Uma investigação epidemiológica eficaz, que inclua a realização de inquéritos parasitológico e malacológico aliados à uma avaliação ambiental de risco, permite aos serviços de saúde estimar as necessidades de intervenção e selecionar quais as ações de controle mais adequadas a cada comunidade. No item Estratégia Alternativa para o Diagnóstico e Controle da Esquistossomose, deste capítulo, faz-se uma breve avaliação das atuais estratégias recomendadas pela OMS e pelo ministério da Saúde (MS) para levantamento parasitológico e tratamento quimioterápico da esquistossomose, e se propõe uma estratégia alternativa, adequada para uma área endêmica específica.

HISTÓRICO DAS ESTRATÉGIAS RECOMENDADAS PELA OMS PARA O CONTROLE DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI

Desde a década de 1950, a OMS tem estabelecido sucessivas diretrizes para a avaliação e o controle da esquistossomose em escala global (WHO, 1953, 1961, 1965, 1967, 1973, 1980, 1985, 1993, 2002). A pesquisa

científica proporcionou o avanço do conhecimento, redefinindo objetivos. Novas estratégias de controle foram sendo ajustadas nos nove relatórios produzidos pelos Comitês de Especialistas da OMS, baseados na experiência acumulada de pesquisas em países endêmicos, inclusive o Brasil. O breve histórico que se segue pretende mostrar o esforço dedicado ao equacionamento desse importante problema de saúde pública.

Década de 1950

Em seu primeiro relatório (WHO, 1953), o Comitê de Especialistas da OMS revisava o conhecimento disponível sobre a epidemiologia, a distribuição geográfica e os procedimentos e métodos usados em inquéritos e recomendava a realização de estudos sobre morfologia, taxonomia, suscetibilidade, fisiologia e ecologia dos moluscos hospedeiros intermediários, sobre os aspectos clínicos da doença e também sobre os fatores geográficos, demográficos e socioeconômicos envolvidos em sua transmissão. Além disso, estabelecia as seguintes metas prioritárias:

- desenvolvimento de métodos diagnósticos confiáveis e de fácil uso;
- descoberta de moluscicidas com toxicidade prolongada restrita às espécies-alvo em baixas concentrações, impacto ambiental mínimo, baixo custo e fácil aplicação;
- descoberta de drogas quimioterápicas eficazes e seguras;
- utilização de índices fidedignos de infecção;
- escolha de escolares como um grupo representativo da população a ser examinada;
- realização de ações preventivas no âmbito dos programas locais de saúde.

Década de 1960

No segundo relatório (WHO, 1961), o Comitê reconhecia que o combate aos moluscos hospedeiros intermediários era a medida isolada mais efetiva no controle da esquistossomose. Fez recomendações sobre os aspectos operacionais do uso dos moluscicidas sob diferentes condições ecológicas, visando à sua máxima eficiência. Deixava claro, porém, que o controle da esquistossomose só poderia ser alcançado com o emprego de uma ou mais das seguintes medidas:

- tratamento das pessoas infectadas para reduzir ou abolir a liberação de ovos;
- redução ou prevenção de contaminação da água com medidas como fornecimento de água encanada, saneamento e adoção de hábitos sanitários pela população;
- redução ou completa prevenção do contato humano com água contaminada;
- redução ou eliminação dos moluscos hospedeiros.

O Comitê reconhecia que as drogas quimioterápicas disponíveis ainda eram pouco eficazes, caras e inadequadas para uso em campanhas de tratamento e considerava que medidas como o saneamento e a instalação de latrinas não eram de fácil implementação, principalmente em áreas rurais. Evitar o contato humano com a água contaminada poderia ser contraproducente nas áreas de clima quente.

No terceiro relatório (WHO, 1965), o Comitê reconhecia a importante contribuição à pesquisa feita por alguns países endêmicos, entre eles o Brasil. No entanto, advertia sobre a expansão da doença com o

desenvolvimento de esquemas de irrigação e outros recursos hídricos. Para a realização de inquéritos parasitológicos representativos, recomendava a amostragem por localidade e residência, abrangendo as diferentes faixas etárias.

O Comitê reiterava que o objetivo dos programas de controle devia ser a redução da transmissão, com base principalmente no uso de moluscicidas. Considerava que o controle da transmissão por meio da quimioterapia ainda não era exeqüível devido à falta de drogas satisfatórias. Porém, ressaltava a importância da provisão de água e esgoto como medidas de suporte aos programas de controle, assim como o papel da educação pública para a saúde na obtenção de cooperação e apoio da comunidade.

No relatório seguinte (WHO, 1967), o Comitê relatava o contraste entre os avanços recentes no conhecimento e a sua aplicação prática no controle da doença. Recomendava que as descobertas fossem testadas no campo e os resultados, avaliados sob diferentes cenários epidemiológicos. Voltava a advertir sobre a expansão da esquistossomose em vários países e, no Brasil, nos estados do Sul e no Maranhão. Como os programas de controle estavam enfrentando problemas de orçamento e pessoal qualificado, o Comitê recomendava que os objetivos fossem ajustados às realidades locais, seja limitando-se a impedir a expansão da doença, seja controlando apenas sua morbidade.

Década de 1970

No relatório que se seguiu (WHO, 1973), o Comitê lamentava que os programas de controle continuassem a ser desencorajados com os argumentos de que as lacunas no conhecimento ainda eram consideráveis e que as deficiências de infra-estrutura, de pessoal qualificado e de orçamento impediam a continuidade das ações por períodos prolongados. Falsas expectativas e concepções errôneas surgiam da definição inadequada dos objetivos específicos. Estes deveriam ser ditados pela epidemiologia e severidade da doença, pelos recursos disponíveis e por sua relevância em relação a outros problemas de saúde pública. Um objetivo altamente prioritário nos países endêmicos seria prevenir a expansão da esquistossomose para áreas indenes, ficando claro que as ações de controle deveriam ser mantidas por vários anos para terem sucesso.

Quanto aos programas de controle até então implementados, se criticava a falta de padronização dos métodos de avaliação, a ausência de áreas de comparação e a pouca duração do período de avaliação. Reconhecia evidências de que a transmissão podia ser reduzida com as medidas de controle disponíveis, destacando no programa brasileiro:

- a queda da prevalência de 23% para 9% num período de dois anos, em uma área, e a redução da intensidade de infecção em 40% num período de quatro anos, em outra, ambas com o uso de moluscicida (niclosamida);
- a evidência de que o tratamento quimioterápico de crianças, com alta contagem de ovos, poderia impedir a progressão da infecção para formas severas da doença;
- o insucesso do controle da transmissão pelo tratamento dos portadores de infecção com hycanthone.

O Comitê não recomendava o desenvolvimento de novos esquistossomicidas, devido ao alto custo das pesquisas clínicas e as exigências dos órgãos de saúde quanto à segurança dos produtos quimioterápicos. Reconhecia que o tratamento dos positivos, conjugado com o controle dos moluscos,

tinha impacto mais rápido sobre a incidência, prevalência e intensidade da infecção do que o uso de moluscicidas como única medida de controle. Reiterava a importância dos moluscicidas já disponíveis comercialmente no controle da esquistossomose, recomendando o aperfeiçoamento das estratégias de aplicação desses produtos para obter o máximo de efeito a um custo mínimo. Recomendava o uso de medidas de controle ambiental para tornar as coleções de água inóspitas ao desenvolvimento dos moluscos hospedeiros e desaconselhava o controle biológico dos moluscos sem uma investigação adequada das possíveis conseqüências.

Década de 1980

Sete anos depois (WHO, 1980), o Comitê de Especialistas registrava uma alteração significativa na abordagem do controle, passando a ênfase para a quimioterapia e as ações preventivas (provisão de água, saneamento, educação em saúde e melhorias socioeconômicas). Essa nova abordagem, denominada 'controle integrado', colocava o hospedeiro humano no centro das atenções, reconhecendo a importância de seu papel no sucesso e no fracasso dos programas de controle, e a aplicação de moluscicidas passava a ser considerada como medida auxiliar no controle da esquistossomose. Os principais motivos para essa mudança foram:

- o investimento da indústria farmacêutica em drogas e formulações mais eficazes e seguras;
- o custo crescente dos produtos moluscicidas;
- o desenvolvimento de métodos diagnósticos quantitativos simples e rápidos (Katz, Chaves & Pellegrino, 1972);
- o sucesso inicial dos programas nacionais de controle, inclusive no Brasil, onde o Programa Especial de Controle da Esquistossomose (Pece) havia medicado mais de um milhão de pessoas com oxamniquine entre 1976 e 1979.

Passados mais cinco anos (1985), o Comitê de Especialistas consolidou uma nova mudança nas prioridades e abordagens operacionais, adotando o controle da morbidade como objetivo imediato, em lugar do controle da transmissão. Considerava que o uso integrado de múltiplas medidas de intervenção para reduzir ou interromper a transmissão estava além dos recursos humanos e financeiros disponíveis na maioria dos países endêmicos. Em compensação, a redução da doença em si era um objetivo exeqüível para os sistemas de cuidados primários de saúde, graças aos seguintes avanços:

- simplicidade e confiabilidade dos métodos de diagnóstico;
- eficácia, segurança e facilidade de administração das drogas quimioterápicas;
- adequação das medidas de controle de moluscos aos critérios epidemiológicos específicos;
- precisão na coleta e análise dos dados. No entanto, era advertido que o sucesso das medidas de intervenção com impacto direto sobre a morbidade (como quimioterapia, provisão de água, saneamento e modificação ambiental) dependia da participação ativa da população. Por isso, a educação em saúde deveria ter um papel preponderante nos programas de controle. Os aspectos organizacionais, gerenciais e operacionais do controle também deveriam ser alvos de maior atenção.

A organização das operações de controle era dividida em três fases principais:

- ‘planejamento’, em que os dados epidemiológicos eram coletados, as metas eram definidas, a abordagem operacional era estabelecida e os recursos, garantidos;
- ‘ataque’ ou ‘intervenção’, em que as ações de controle eram implementadas e avaliadas continuamente, esperando-se uma redução nos índices de infecção com o tratamento quimioterápico;
- ‘manutenção’, em que as medidas de controle eram direcionadas para o combate aos moluscos hospedeiros nos focos peridomiciliares de transmissão e/ou para esquemas de tratamento quimioterápico periódico, dependendo da situação epidemiológica.

Década de 1990

O único relatório do Comitê de Especialistas divulgado na década de 1990 (WHO, 1993) reforçava, em linhas gerais, as diretrizes apresentadas no relatório anterior (WHO, 1985). Ressaltava os avanços obtidos pelos programas de controle da morbidade, principalmente aqueles que se integravam aos sistemas de cuidados primários de saúde. Assinalava também a utilização de novas tecnologias: gerenciamento de dados por computador, utilização de aparelhos portáteis de ultra-sonografia em condições de campo, recursos audiovisuais nas estratégias de informação, educação e comunicação. Recomendava a integração do controle da esquistossomose com o das geo-helmintoses para melhor custo-benefício do Programa.

O Comitê também reiterava a recomendação do primeiro relatório (WHO, 1953) para que as crianças em idade escolar tivessem prioridade nos programas de controle, pelas seguintes razões:

- as crianças eram o grupo vulnerável de maior crescimento nos países endêmicos;
- eram portadoras de maior carga parasitária;
- a doença afetava seu crescimento, desenvolvimento e estado de saúde.

O tratamento quimioterápico periódico permanecia como o componente central dos programas de controle, ainda que o custo das drogas (oxamniquine e praziquantel) permanecesse elevado. Para otimizar a relação custo-benefício, a seguinte estratégia era recomendada, utilizando crianças em idade escolar como um grupo indicador do *status* da infecção na comunidade:

- realizar um inquérito parasitológico nas crianças de 7-14 anos, facilmente localizadas nas escolas e que constituem o grupo de maior intensidade de infecção em uma comunidade;
- proceder ao tratamento:
    - em toda a população, se a prevalência no grupo indicador for maior que 50%;
    - tratar as crianças de 5-19 anos, se a prevalência no grupo indicador estiver entre 20% e 50%;
    - tratar todas as crianças positivas do grupo indicador, caso a prevalência esteja abaixo de 20%.
- para o retratamento, a principal meta é proteger as crianças de 5-19 anos à medida que crescerem e continuarem a se infectar;
- em áreas de baixa endemicidade ou em situações onde faltavam recursos, o controle da morbidade deveria ser feito por intermédio de vigilância passiva que garantisse a disponibilidade do medicamento nas instituições de saúde sempre que algum caso fosse identificado.

Década de 2000

No último relatório divulgado (WHO, 2002), o Comitê de Especialistas consolida uma nova estratégia, conjugando o controle da esquistossomose ao das geo-helmintoses e dirigindo o tratamento para grupos de alto risco sem diagnóstico individual prévio. As razões apontadas são:

- superposição dos grupos-alvo e dos aspectos operacionais envolvidos no controle dessas parasitoses;
- o custo elevado do diagnóstico no tratamento seletivo;
- o praziquantel pode ser administrado com segurança em mulheres grávidas e lactantes;
- a queda no preço do praziquantel e outros anti-helmínticos devido ao término de suas patentes, tornando disponíveis as formulações genéricas para uso nos países endêmicos.

Os principais alvos para o tratamento periódico e sistemático da esquistossomose passam a ser as crianças em idade escolar e grupos ocupacionais com alta freqüência de contato com os criadouros (plantadores de cana, pescadores e mulheres em tarefas domésticas). Medidas auxiliares, como provisão de água, saneamento, educação em saúde e controle ambiental dos moluscos hospedeiros, devem ser promovidas em todos os casos.

Mesmo sem as medidas adicionais de controle, o tratamento periódico durante a infância pode garantir a redução da morbidade hepática na comunidade até que a taxa de transmissão decline. Além disso, a introdução de um programa de tratamento regular contra a esquistossomose e as geo-helmintoses pode prevenir deficiências de ferro e anemia e melhorar o desenvolvimento cognitivo e o desempenho escolar. Tal programa também atenderia à resolução da Assembléia Mundial de Saúde, que fixou como meta para o ano 2010 o oferecimento de tratamento regular da esquistossomose e geo-helmintoses a pelo menos 75% das crianças em idade escolar vivendo nas áreas endêmicas.

Foi recomendada a seguinte estratégia para diagnóstico e tratamento, que pode ser modificada para se adequar às peculiaridades de cada área de cobertura:

- dividir a área (distrito, município ou região) em zonas ecologicamente homogêneas e conduzir um inquérito parasitológico em uma amostra aleatória de escolas para avaliar a prevalência e a intensidade de infecção, totalizando 200-250 crianças;
- categorizar a intensidade de infecção de cada criança: leve (1-99 opg), moderada (100- 399 opg) e severa (≥ 400 opg);
- usar os resultados desse inquérito inicial para determinar o nível endêmico da área: alto (≥ 50% de prevalência), médio (≥ 10% e < 50%) ou baixo (< 10%);
- com base na determinação do nível endêmico da área, estabelecer o seguinte esquema de tratamento:
    - nível endêmico alto – tratamento anual dirigido a todas as crianças em idade escolar e demais grupos de alto risco, além de acesso ao praziquantel para tratamento dos casos diagnosticados pelos serviços de saúde;
    - nível endêmico médio – tratamento bienal dirigido aos escolares e acesso ao praziquantel para tratamento dos casos diagnosticados pelos serviços de saúde;

- nível endêmico baixo – tratamento dirigido aos escolares duas vezes durante o período de ensino fundamental, além de acesso ao praziquantel para tratamento dos casos diagnosticados pelos serviços de saúde.

As sucessivas diretrizes da OMS para avaliação e controle da esquistossomose se refletem nas mudanças de prioridades quanto às medidas de controle. Até 1980 o objetivo era exclusivamente o controle da transmissão; a partir daí a ênfase passou para o controle da morbidade. Quanto às estratégias, o controle dos moluscos predominou até o início dos anos 1980, sendo substituído pelo controle quimioterápico seletivo até o final da década de 1990 e, recentemente, pelo controle quimioterápico dirigido aos grupos mais vulneráveis. Outras medidas de controle, embora recomendadas, não tiveram tanta prioridade ao longo das décadas.

Quadro 1 – Evolução dos objetivos e estratégias de controle da esquistossomose mansoni recomendados pelos Comitês de Especialistas da OMS. Os sombreados de cor laranja e de cor azul indicam, respectivamente, alta e baixa prioridade

Recomendações		1953	1961	1965	1967	1973	1980	1985	1993	2002
Objetivo	Transmissão	laranja	laranja	laranja	laranja	laranja	laranja	azul	azul	azul
	Morbidade							laranja	laranja	laranja
Controle de moluscos	Químico	laranja	laranja	laranja	laranja	laranja	laranja	azul	azul	azul
	Biológico	azul	azul	azul	azul	azul				
	Ecológico	azul	azul	azul	azul	azul	azul	azul	azul	azul
Controle quimioterápico	Seletivo	azul	azul	azul	azul	azul	laranja	laranja	laranja	
	Dirigido						azul	azul	azul	laranja
	Em massa						azul	azul	azul	
Outras medidas de controle	Educação	azul	azul	azul	azul	azul	azul	azul	azul	azul
	Saneamento	azul	azul	azul	azul	azul	azul	azul	azul	azul

HISTÓRICO DOS PROGRAMAS DE CONTROLE DA ESQUISTOSSOMOSE NO BRASIL

O primeiro inquérito nacional para estimar a prevalência da esquistossomose no Brasil foi levado a efeito de 1947 a 1952, por decisão governamental da Divisão de Organização Sanitária (Pellón & Teixeira, 1950). Tal inquérito foi realizado entre escolares, na faixa etária de 7-14 anos, nas sedes dos municípios de maior importância médico-sanitária, priorizando-se os núcleos com população superior a 1.500 habitantes. Os autores estimaram em 2,6 milhões o número de portadores de infecção por *S. mansoni* nos 16 estados pesquisados:

Tabela 1 – Prevalência da esquistossomose por estado brasileiro, observada em inquérito realizado por Pellón e Teixeira entre julho de 1947 e junho de 1950

Estado	Prevalência da doença
1. Rondônia	NE
2. Acre	NE
3. Amazonas	NE
4. Roraima	NE
5. Pará	NE
6. Amapá	NE
7. Tocantins	NE
8. Maranhão	0,46
9. Piauí	0,04
10. Ceará	0,94
11. Rio Grande do Norte	2,32
12. Paraíba	7,49
13. Pernambuco	25,09
14. Alagoas	19,75
15. Sergipe	29,80
16. Bahia	16,55
17. Minas Gerais	4,92
18. Espírito Santo	1,62
19. Rio de Janeiro	0,10
20. São Paulo	NE

Tabela 1 – Prevalência da esquistossomose por estado brasileiro, observada em inquérito realizado por Pellón e Teixeira entre julho de 1947 e junho de 1950 (continuação)

Estado	Prevalência da doença
21. Paraná	0,12
22. Santa Catarina	0,00
23. Rio Grande do Sul	NE
24. Mato Grosso do Sul	NE
25. Mato Grosso	0,01
26. Goiás	0,08
27. Distrito Federal	NE
Brasil	7,26

NE = não endêmico.
Fonte: adaptada de Passos & Amaral (1998) e de Coura & Amaral (2004).

Ainda que o inquérito de Pellón e Teixeira tenha representado um importante avanço no conhecimento da esquistossomose no Brasil, é plausível supor que seu resultado tenha subestimado a real situação da doença, já que eles priorizaram apenas escolares e deixaram de cobrir várias localidades e municípios inteiros da área endêmica da doença no país. Apesar dessa limitação, esse inquérito constituiu um ponto de partida fundamental para as campanhas de controle posteriormente implementadas no país, já que delineou a distribuição geográfica da doença e revelou que a esquistossomose tinha ampla distribuição no país e apresentava índices de positividade superiores a 50% em escolares de vários municípios brasileiros. Apesar disso, o controle nacional da doença só foi implementado em 1975 pela Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (Sucam), quando o ministério da Saúde criou o Programa Especial de Controle da Esquistossomose (Pece). A criação desse programa foi impulsionada pelo surgimento de uma nova droga antiesquistossomótica, a oxamniquine, que conferia boa eficácia terapêutica, ausência de efeitos colaterais sérios e administração por via oral, em dose única. O Pece adotou como grupo-alvo as crianças na faixa etária de 7-14 anos e direcionou suas atividades para o tratamento seguindo o esquema: em municípios com prevalência acima de 20%, fazia-se tratamento em massa da população acima de dois anos de idade; se a prevalência estivesse entre 5% e 20%, tratava-se a população de cinco a 35 anos e se a prevalência fosse menor que 5%, fornecia-se tratamento somente aos positivos. Entretanto, durante o Pece, o intervalo entre os inquéritos e a faixa etária da população submetida a tratamento variaram bastante. Aplicação de moluscicida para o controle dos caramujos hospedeiros, ações de saneamento, abastecimento de água e educação em saúde, embora previstas pelo Pece, foram implementadas em menor escala e de forma irregular.

Em 1980, o Pece perdeu as características de programa especial, tornando-se um programa de rotina do ministério da Saúde e passando a se chamar Programa de Controle da Esquistossomose (PCE). As ações do PCE restringiram o tratamento em massa e estimularam a participação de outros órgãos de

saúde pública no diagnóstico e tratamento. A abrangência do tratamento (dirigido ou seletivo) era definida em função da prevalência em cada município avaliado pelos inquéritos parasitológicos em crianças de 7-14 anos. As atividades foram direcionadas para o tratamento bienal em massa da população e, em menor escala e de forma irregular, para o controle dos caramujos mediante aplicação de moluscicida. Ações de saneamento, abastecimento de água e educação em saúde foram implementadas esporadicamente.

Em 1990, o PCE foi reestruturado e passou a ser dirigido pela Fundação Nacional de Saúde (Funasa), que se originou da fusão da Sucam com a Fundação de Serviço Especial de Saúde Pública (FSesp). A aplicação de moluscicida foi limitada a focos de transmissão isolados e localidades com alta prevalência. Um importante avanço nessa fase foi a adoção da localidade como unidade epidemiológica de onde as informações parasitológicas e epidemiológicas eram extraídas e a partir das quais as intervenções eram implementadas, respeitando-se as peculiaridades de cada uma. Em 1999, a partir da proposta de Reforma Sanitária, o ministério da Saúde descentralizou as ações da Funasa e do controle da esquistossomose. Desde então, o diagnóstico e as ações de controle e vigilância epidemiológica da doença passaram a ser responsabilidade dos serviços municipais de saúde, sob a coordenação estadual, cabendo à União o apoio técnico e financeiro. O PCE passou então a atuar apenas no treinamento dos agentes de saúde em técnicas de diagnóstico, fornecimento de medicação, recolhimento e processamento das informações epidemiológicas levantadas localmente e na realização de inquéritos especiais para diagnóstico e tratamento em massa nas populações com alta prevalência.

Cabe mencionar que, do Pece até a descentralização da Funasa, em 1999, as informações sobre a esquistossomose, incluindo a identificação e o número de portadores da doença, eram obtidas por busca ativa, mediante a realização, nas comunidades, de inquéritos parasitológicos pelos guardas de endemias da Sucam ou da Funasa.

Com a implementação da Reforma Sanitária concebida na 8ª Conferência Nacional de Saúde, em 1986, começa o processo de transformação na atuação dos serviços de saúde pública no Brasil (Arouca, 1998). Entre os vários objetivos da Reforma Sanitária, destaca-se a descentralização e regionalização das ações de saúde, cabendo aos municípios a definição de prioridades para promoção da saúde visando ao controle dos agravos, integrando recursos, técnicas e práticas voltadas para a cobertura total das ações de saúde. Por essa nova perspectiva, o controle da esquistossomose é de competência dos serviços de saúde municipais, que devem organizar a busca dos casos com recursos humanos próprios, promover o diagnóstico e tratamento, consolidar as informações levantadas e notificá-las para os órgãos oficiais de saúde a nível estadual e federal.

A Atuação dos Programas Oficiais de Controle

Controle Quimioterápico por meio do Tratamento dos Esquistossomóticos

Os programas oficiais de controle da esquistossomose no Brasil se basearam quase que exclusivamente em campanhas periódicas de tratamento dos portadores da infecção. Desde a implementação do Pece, em 1975, até 1999, a droga empregada pelo ministério de Saúde no tratamento da esquistossomose era a oxamniquine (Mansil), administrada em dose única, que conferia uma taxa de cura na faixa de 65% a 85% (Lima & Costa et al., 1993). Devido ao alto custo da oxamniquine, outro fármaco, o praziquantel, foi introduzido pelo ministério para substituir o anterior, por ser mais barato, conferir uma taxa de cura entre 60% e 90% e uma redução de contagem de ovos de 90% a 95% naqueles casos que não são curados.

Durante o período de atuação dos programas de controle a única mudança considerável no tratamento dos portadores da infecção foi a abrangência com que a droga foi administrada nas comunidades. De 1975 a 1980 o tratamento era administrado em massa, seguindo-se o seguinte esquema: lugares com prevalência superior a 20%, tratamento em massa da população acima de dois anos de idade; quando a prevalência se encontrasse entre 5% e 20%, somente a população de cinco a 35 anos era tratada; e, se a prevalência fosse menor que 5% somente os casos positivos eram tratados. De 1980 até 1990, o tratamento passou a ser administrado de acordo com os níveis de prevalência e segundo a classificação endêmica da área: em áreas endêmicas primárias – com transmissão há longo tempo e altas prevalências –, recomendava-se a o tratamento em massa, bienal, onde a prevalência em crianças de sete a 14 anos fosse superior a 50%; quando a prevalência era de 25% a 50%, tratamento seletivo da população de dois a 14 anos; e tratamento somente dos positivos quando a prevalência fosse inferior a 25%. Para as áreas endêmicas secundárias – com transmissão recente – recomendava-se o mesmo esquema de tratamento baseado na prevalência de exames de 20% de toda a população das localidades com menos de mil habitantes e de 10% em localidades com mais de mil habitantes. Para as áreas com focos isolados recomendava-se o tratamento somente dos positivos (Coura & Amaral, 2004).

Na Tabela 2 são apresentados os números de portadores de infecção detectados pelo método de Kato-Katz e os tratamentos realizados entre 1975 e 2005, em todo o país, pelos programas de controle.

Tabela 2 – População examinada, percentual de positividade e tratamentos com oxamniquine realizados em portadores de esquistossomose, no período de 1975 a 2005, em todo o Brasil

Ano	População examinada	Portadores de infecção	Positividade (%)	Tratamentos realizados
1975	855.921	46.331	5,4	11.580
1976	1.018.496	51.718	5,1	8.760
1977	443.591	103.409	23,3	285.370
1978	626.697	86.111	13,7	1.098.309
1979	663.429	59.905	9,0	1.640.191
1980	1.684.615	164.860	9,8	1.296.703
1981	1.840.626	172.242	9,4	978.358
1982	1.732.907	136.882	7,9	777.617
1983	2.096.268	184.149	8,8	811.112
1984	2.347.810	198.025	8,4	834.588
1985	2.697.910	223.609	8,3	700.975
1986	1.878.728	138.481	7,4	407.354
1987	1.406.844	90.001	6,4	208.322
1988	1.363.606	82.962	6,1	145.600

Tabela 2 – População examinada, percentual de positividade e tratamentos com oxamniquine realizados em portadores de esquistossomose, no período de 1975 a 2005, em todo o Brasil (continuação)

Ano	População examinada	Portadores de infecção	Positividade (%)	Tratamentos realizados
1989	1.395.202	76.412	5,5	150.821
1990	1.802.675	150.934	8,4	195.430
1991	1.900.761	134.103	7,1	164.576
1992	2.353.970	203.207	8,6	253.666
1993	2.354.390	274.084	11,6	316.077
1994	2.559.051	283.369	11,1	321.203
1995	2.715.259	300.484	11,1	322.666
1996	2.718.164	245.401	9,0	261.533
1997	2.791.831	290.031	10,4	287.131
1998	2.163.354	183.374	8,5	195.402
1999	2.095.765	177.146	8,5	170.580
2000	1.364.240	90.580	6,6	92.351
2001	1.369.540	93.347	6,8	89.516
2002	2.067.541	140.627	6,8	132.292
2003	2.055.965	138.963	6,8	130.241
2004	1.821.942	108.717	6,0	99.773
2005	1.827.253	108.705	6,1	102.503

(–): Dados não informados.

Fonte: secretaria de vigilância em Saúde, ministério da Saúde.

As informações disponíveis na Tabela 2 demonstram grandes diferenças entre o número de portadores de infecção diagnosticados e o de tratamentos realizados, principalmente nos anos de atuação do Pece e nos primeiros anos do PCE/Sucam, refletindo a extensa utilização do tratamento em massa empregado pelos programas de controle. Nota-se que isso não ocorreu apenas nos anos de 1975 e 1976, pois nessa época a droga disponível para o tratamento da esquistossomose era o hycanthone, que produzia efeitos colaterais indesejáveis. A diferença entre aqueles dois parâmetros tendeu a se reduzir gradativamente ao longo dos anos, refletindo uma mudança nos critérios de abrangência do tratamento.

Não se pode negar que as ações periódicas de tratamento promoveram uma redução na prevalência da esquistossomose na grande maioria dos municípios da área endêmica do país e que o tratamento é uma importante estratégia para o controle da endemia. Vale ressaltar, no entanto, que a quimioterapia

é apenas um paliativo e que o controle da doença não pode ser visto fora do contexto social e econômico das comunidades endêmicas. O controle da endemia só será alcançado de forma duradoura e sustentável com o emprego de medidas que impliquem a melhoria das condições de vida das populações menos favorecidas e que são atingidas pela doença.

De acordo com alguns autores, a implementação de tratamento em massa com oxamniquine durante vários anos consecutivos pode ter induzido uma tolerância de *S. mansoni* a esta droga e promovido a seleção de cepas de resistentes. O grupo assessor do PCE e Gerência Técnica de Esquistossomose do Ministério da Saúde levaram ainda em consideração o custo bem menor do praziquantel para que essa droga tenha sido recentemente adotada pelos programas de controle. A compreensão de vários pesquisadores da área clínica e patológica com extensa experiência em ensaios clínicos e experimentais é a de que um benefício importante oriundo dessa política de medicalização foi a contribuição para a prevenção da evolução e/ou na regressão das formas graves da doença (Kloetzel, 1967; Bina, 1981; Bina & Prata, 1983).

O Controle dos Moluscos Vetores

Até o surgimento da oxamniquine como droga eficaz e segura para tratamento em grande escala da esquistossomose, o controle da endemia era feito basicamente por meio do controle dos hospedeiros intermediários. Esse controle consiste no emprego de agentes químicos, físicos ou biológicos para reduzir a distribuição e a abundância das espécies de *Biomphalaria* que albergam formas larvares de *S. mansoni* e, assim, diminuir as chances de infecção do hospedeiro definitivo.

Das medidas de controle biológico e ambiental esperam-se efeitos de médio e longo prazo, não só na densidade de moluscos, mas também nos índices de infecção humana; já do químico, o impacto esperado é em curto prazo. Apesar das perspectivas do controle biológico (Barbosa & Barbosa, 1995) e ambiental (Pieri, Felipe & Sarquis, 1995) dos moluscos vetores, não há informações sistemáticas sobre o impacto dessas medidas na infecção humana. Por outro lado, o controle químico foi alvo de várias pesquisas de campo, sendo o único efetivamente empregado pelos programas nacionais de controle da esquistossomose, por intermédio da aplicação de substâncias tóxicas nos criadouros naturais para reduzir drástica e rapidamente as populações de *Biomphalaria.*

Até a década de 1970, vários produtos químicos foram testados e empregados no combate dos caramujos, incluindo a cal extinta, o sulfato de cobre, o pentaclorofenato de sódio, a tritilmorfolina e a niclosamida, esta última conhecida comercialmente como Bayluscide. Todos eles eram considerados tóxicos ao meio ambiente. No entanto, o único desses moluscicidas amplamente utilizado nas campanhas nacionais de controle da esquistossomose foi a niclosamida, produzida pela indústria farmacêutica Bayer.

A aplicação da niclosamida nos criadouros de *Biomphalaria* foi a única medida de controle complementar à quimioterapia implementada com alguma regularidade na área endêmica do país pela Sucam e Funasa, com exceção dos projetos pilotos realizados durante o Pece em localidades de Pernambuco, Rio Grande do Norte e Minas Gerais, nas quais várias medidas de controle foram conjugadas a fim de se avaliar o impacto sobre a infecção humana.

Com efeito, entre 1977 e 1980, o Pece fez um levantamento malacológico seguido da aplicação de moluscicida em 21.927 localidades da área endêmica de seis estados do Nordeste, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas e Sergipe. Naquele período, foram pesquisadas 175.712 coleções hídricas, das quais 42.178 (24%) eram colonizadas por moluscos hospedeiros (Machado, 1982). Essa

ampla distribuição dos moluscos, associada à alta prevalência da doença nesses estados, bem como à presença desses moluscos em outros estados brasileiros e à sua alta capacidade de reprodução, acabaram por encorajar a aplicação da niclosamida de forma maciça nas diferentes áreas endêmicas da doença. Apesar disso, tanto os levantamentos malacológicos quanto a aplicação de moluscicida nem sempre foram sincronizados com o levantamento da prevalência na população humana seguido de tratamento dos portadores da infecção.

Essa estratégia de aplicar moluscicidas como medida auxiliar à quimioterapia permaneceu nos anos posteriores à atuação do Pece, porém em escala reduzida. Na Tabela 3 é fornecida uma idéia do uso de moluscicida pela Sucam e Funasa nos estados do Nordeste.

Tabela 3 – Número de coleções hídricas pesquisadas segundo a presença de caramujos *Biomphalaria* spp e de criadouros tratados com niclosamida, com respectivos percentuais de tratamento (%). Brasil, 1976-2002

Ano	Criadouros Pesquisados	Criadouros Tratados	%
1976	16.488	1.885	11,4
1977	43.178	1.485	3,4
1978	106.319	20.394	19,2
1979	54.817	17.776	32,4
1980	126.272	33.121	26,2
1981	123.070	28.881	23,5
1982	139.255	27.279	19,6
1983	178.178	37.430	21,0
1984	197.337	27.614	14,0
1985	212.113	30.548	14,4
1986	156.183	17.103	11,0
1987	55.339	6.157	11,1
1988	79.287	5.406	6,8
1989	100.720	7.126	7,1
1990	37.400	4.257	11,4
1991	51.012	4.319	8,5
1992	50.507	7.495	14,8
1993	45.572	7.142	15,7
1994	31.772	4.717	14,8
1995	34.181	4.680	13,7

Tabela 3 – Número de coleções hídricas pesquisadas segundo a presença de caramujos *Biomphalaria* spp e de criadouros tratados com niclosamida, com respectivos percentuais de tratamento (%). Brasil, 1976-2002 (continuação)

Ano	Criadouros Pesquisados	Criadouros Tratados	%
1996	31.183	2.908	9,3
1997	27.832	4.016	14,4
1998	44.280	15.430	34,8
1999	7.774	729	9,4
2000	1.519	301	19,8
2001	3.306	10	0,3
2002	2.871	0	0,0

Fonte: secretaria de vigilância em Saúde, ministério da Saúde.

Paralelamente, vários estudos interventivos de campo, conduzidos por diferentes grupos de pesquisa nas diversas áreas endêmicas do país, mostraram uma redução significativa na transmissão quando medidas de controle (moluscicida e/ ou quimioterapia) eram aplicadas periodicamente por alguns anos (Katz, 1998). Estudos realizados entre 1966 e 1978 mostraram que tanto a abundância relativa e a infecção natural de *B. straminea* quanto os índices de infecção humana (prevalência, incidência e intensidade) sofreram queda significativamente maior na área tratada com moluscicida do que na área não tratada. Apesar de otimistas, os resultados desencorajaram o emprego de niclosamida no controle da esquistossomose, não só porque a transmissão não foi interrompida, mas também pelos altos custos envolvidos (Barbosa & Costa, 1981).

Apesar de os estudos mostrarem que o emprego da niclosamida, único produto disponível comercialmente, é capaz de reduzir a população de caramujos e produzir um impacto substancial sobre a prevalência e a incidência da infecção humana, ela tem como desvantagens o alto custo-benefício (Coura, 1995), a ação letal sobre outros organismos (WHO, 1992) e a necessidade de aplicações freqüentes (Barbosa & Costa, 1981; Coura Filho et al., 1992; Pieri, Felipe & Sarquis, 1995). Mesmo nas áreas endêmicas, o uso continuado da niclosamida só se justifica quando a prevalência e a intensidade da infecção humana são altas, o saneamento é inviável e o impacto ambiental, desprezível.

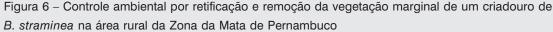
Isso não significa que o controle dos moluscos vetores deve ser desestimulado nas áreas de transmissão ativa, pelo contrário. Essa medida continua sendo a mais eficaz para reduzir rapidamente a transmissão da doença em áreas de alta prevalência (Sturrock, 1995). Infelizmente, estudos visando oferecer uma alternativa ao uso de moluscicidas químicos para o controle dos hospedeiros intermediários têm tido pouco sucesso.

De fato, muitas pesquisas foram feitas buscando descobrir compostos de origem vegetal, extraídos de várias partes de plantas (fruto, látex etc.) com ação moluscicida, porém com impacto ambiental presumivelmente menor. No entanto, tais pesquisas ainda não geraram um produto eficaz para uso em condições naturais, ou porque não conseguiram isolar um princípio ativo que atue apenas sobre os moluscos-

alvo, ou porque não conseguiram produzir quantidades suficientes para seu uso em larga escala. Portanto, até o momento, nenhum desses compostos foi empregado em campanhas de controle em um país endêmico. Dentre as plantas empregadas para fins moluscicidas podem-se citar os compostos extraídos de *Phytolacca dodecandra*, *Ambrosia maritima* e *Swartzia madagascarensis*. Destaque deve ser dado ao estudo do látex de *Euphorbia splendes*, conhecida como coroa-de-cristo, cuja eficácia já foi testada em condições naturais e os resultados são animadores: mesmo em pequenas concentrações o látex é capaz de matar os caramujos *Biomphalaria*, exibindo baixa toxicidade para outros animais aquáticos (Schall et al., 2001).

Quanto ao controle biológico, foram utilizados organismos competidores, parasitas ou patogênicos capazes de comprometer a sobrevivência ou a reprodução dos moluscos-alvo. A maioria dos estudos dedicados à busca de agentes biológicos para uso no controle dos moluscos vetores foram realizados até a década de 1980, porém sob condições de laboratório ou em ambientes naturais limitados, como lagoas e pequenos córregos. Os organismos mais comumente empregados nesses estudos foram espécies de moluscos (*Marisa cornuarietis*, *Helisoma duryi*, *Pomacea* sp, *Melanoides tubercullata*, *Biomphalaria straminea*) e de peixes (*Serranochromis macrocephala*, *Umbra pygmaea*, *Cichlasoma biocellatum*, *Astronotus occelattus*, *Barbus conchonius* e *Tilapia melanopleura*). O uso dessas espécies competidoras e/ou predadoras tem sido pouco eficaz no campo, apesar dos resultados animadores obtidos no laboratório (Lardans & Dissous, 1998). Experimentos dessa natureza devem ser vistos com cautela, já que a introdução de espécies exóticas em condições naturais, sem a devida avaliação, pode gerar distúrbios ambientais.

Quanto ao controle ambiental, são feitas alterações de fatores-chave do ambiente para tornar os criadouros impróprios para a instalação, o desenvolvimento ou a manutenção dos moluscos vetores (Figura 6). Medidas locais de pequena escala, como drenagem do solo, remoção da vegetação e retirada de detritos em valas e córregos e/ou aterramento de pequenas coleções hídricas que não representem fonte de vida ou sobrevivência para outras espécies animais são perfeitamente viáveis em áreas do Nordeste do país (Pieri, Felipe & Sarquis, 1995) e têm se mostrado promissoras em diferentes áreas endêmicas (Webbe & Jordan, 1993).

Figura 6 – Controle ambiental por retificação e remoção da vegetação marginal de um criadouro de *B. straminea* na área rural da Zona da Mata de Pernambuco

O panorama traçado anteriormente ilustra a complexidade epidemiológica da esquistossomose também no que diz respeito aos moluscos vetores e aponta para a necessidade de novos estudos que busquem produtos alternativos viáveis, de baixo custo e baixo impacto ambiental que possam ser utilizados como mais uma ferramenta no controle integrado da esquistossomose.

INDICADORES EPIDEMIOLÓGICOS DA ESQUISTOSSOMOSE: DADOS OFICIAIS DO MINISTÉRIO DA SAÚDE

Os estudos epidemiológicos com base em dados secundários podem avaliar as condições de saúde de uma população pelo seu perfil de morbidade e mortalidade, além de considerar outros indicadores específicos para cada agravo.

Dentre os indicadores de morbidade empregados para se avaliar a gravidade e a importância da esquistossomose para a saúde pública estão a prevalência, a mortalidade e o número de internações hospitalares devido a formas graves ou casos agudos. O perfil da mortalidade (óbitos por esquistossomose em um determinado período), por sexo e faixa etária, permite avaliar fatores de risco específicos atribuídos a estas variáveis. Os dados a seguir foram fornecidos pelo ministério da Saúde e merecem algumas considerações.

Prevalência e Positividade da Infecção

A prevalência é um indicador usado em epidemiologia para expressar a força de ocorrência das doenças nas comunidades. A medida mais simples de prevalência é a freqüência absoluta dos casos. O coeficiente de prevalência é a medida que tem maior valor descritivo pois permite estimar e comparar, no tempo e no espaço, a prevalência de uma dada doença. Pode ser descrito como a relação entre o número de casos diagnosticados (ou conhecidos) e a população, multiplicando o resultado por um número fator (100, 1.000, 10.000 etc.) (Rouquayrol & Almeida Filho, 2003).

Muitas vezes esse indicador é indevidamente utilizado e os resultados podem ser subestimados quando a população trabalhada não é representativa dos municípios, estados e do país e a cada ano são trabalhados municípios ou localidades endêmicas diferentes. Esse viés pode ser minimizado calculando-se prevalências médias para períodos mais longos, por exemplo cinco anos.

A evolução da positividade da esquistossomose na população examinada no Brasil pode ser visualizada a seguir, com dados resultantes de inquéritos realizados nos estados brasileiros durante a atuação da Sucam e Funasa e, mais recentemente, a partir dos dados enviados pelos estados e consolidados pela Funasa/MS (Tabela 2, vista anteriormente). A inspeção visual desses dados sugere uma redução da prevalência da doença ao longo do tempo, já que em 1977 ela era de 23,3%, caindo gradativamente nos anos seguintes e chegando a 6,3 %, em 2003. Embora à primeira vista os dados sugiram uma queda real da infecção naquele período, que pode ter ocorrido de fato, se pode deixar de considerar uma série de fatores que recomendam cautela na interpretação dessa série histórica.

Deve-se considerar que esses dados foram obtidos por intermédio de inquéritos parasitológicos realizados sem padronização metodológica entre si, abrangendo diferentes grupos etários da população e, em alguns casos, por amostragem em microrregiões específicas. Um outro viés de informação pode estar no fato de

que os grupos-alvo foram procedentes de áreas indenes, endêmicas ou de regiões com taxas variáveis para a esquistossomose. Deve-se considerar, ainda, que o Brasil está com quase 80% da sua população concentrada em áreas urbanas ou periurbanas e que grande parte desses inquéritos foram realizados em municípios da área rural. A esquistossomose não é mais somente uma endemia rural, configurando-se em alguns estados como doença focal na periferia das grandes cidades e em localidades do litoral.

Com o conhecimento prévio de todos esses fatores, recomenda-se cautela na interpretação e comparação das prevalências e, principalmente, na hora de emitir um juízo a respeito de sua queda ao longo do tempo. A conjunção desses fatores pode mascar e subestimar a real positividade da esquistossomose, gerando erros sistemáticos e falseando estimativas.

O ministério da Saúde estima em 2,5 milhões o número de portadores da esquistossomose no Brasil (Passos & Amaral, 1998). No entanto, outro estudo aponta para existência de seis a sete milhões de esquistossomóticos no país. Apesar das limitações antes mencionadas, esses dados de positividade são os únicos disponíveis e devem ser considerados valiosos pela história de 27 anos de atuação dos programas nacionais de controle, fornecendo informações relevantes quanto à panorâmica da endemia no país. Porém, a contradição de opiniões sobre a estimativa da esquistossomose denota um desconhecimento da atual situação da doença e justifica a necessidade de um inquérito nacional, com amostragem planejada e representativa dos diversos grupos populacionais brasileiros, a fim de atualizar as informações sobre a endemia (Katz & Peixoto, 2000).

Tabela 4 – Prevalência da esquistossomose observada em dois inquéritos de abrangência nacional, por estado brasileiro, em 1947/1952 e 1977/1981

	1947/1952		1977/1981	
Estado	Exames	Prevalência (%)	exames	Prevalência (%)
1. Rondônia	NP	NP	NP	NP
2. Acre	NP	NP	NP	NP
3. Amazonas	NP	NP	NP	NP
4. Roraima	NP	NP	NP	NP
5. Pará	NP	NP	28.213	0,4
6. Amapá	NP	NP	NP	NP
7. Tocantins	**	**	NP	NP
8. Maranhão	12.733	0,6	13.754	3,2
9. Piauí	10.424	0,4	8.518	0,0
10. Ceará	41.218	0,9	20.461	2,9
11. R.Grande do Norte	18.808	2,3	11.870	0,6
12. Paraíba	21.715	7,5	10.294	5,8

Tabela 4 – Prevalência da esquistossomose observada em dois inquéritos de abrangência nacional, por estado brasileiro, em 1947/1952 e 1977/1981 (continuação)

	1947/1952		1977/1981	
Estado	Exames	Prevalência (%)	exames	Prevalência (%)
13. Pernambuco	50.971	25,1	23.495	13,1
14. Alagoas	17.668	19,8	71.987	21,5
15. Sergipe	17.229	29,8	6.085	31,7
16. Bahia	74.590	16,6	NP	NP
17. Minas Gerais	162.491	4,9	55.785	10,1
18. Espírito Santo	12.939	1,6	11.057	2,6
19. Rio de Janeiro	69.228	0,1	24.253	0.5
20. São Paulo	NP	NP	NP	NP
21. Paraná	45.093	0,1	81.825	1,9
22. Santa Catarina	31.926	0,0	14.522	0,0
23. Rio Grande do Sul	NP	NP	29.222	0,0
24. Mato Grosso do Sul	***	***	7.678	0,1
25. Mato Grosso	12.991	0,0	10.398	0,5
26. Goiás	14.968	0,1	18.351	0,1
27. Distrito Federal	****	****	NP	NP
Brasil	614.992	7,3	447.768	6,7

* NP = não pesquisado.

** = no período, fazia parte de Goiás.

*** = no período, fazia parte de Mato Grosso.

**** = no período, situava-se no Rio de Janeiro.

Fonte: secretaria de vigilância em Saúde, ministério da Saúde.

Tabela 5 – Percentual de portadores de *Schistosoma mansoni* detectados nos estados abrangidos pelo Programa Especial de Controle da Esquistossomose (Pece), no quadriênio de sua vigência, 1976/1979, e em 2000/2005

	1976-1979 (PECE)			2000-2005		
Estado	Exames.	Positivos	%	Exames	Positivos	%
Maranhão	339.868	17.481	5,1	537.107	23.745	4,42
Piauí	36.508	954	2,6	3.326	3	0,09
Ceará	141.167	11.965	8,5	149.174	1.428	0,96
Rio G. do Norte	155.398	15.263	9,8	80.602	2.540	3,15
Paraíba	158.344	25.754	16,3	356.323	19.066	5,35
Pernambuco	268.420	59.433	22,1	367.026	37.198	10,13
Alagoas	175.779	51.130	29,1	827.061	95.410	11,54
Sergipe	86.255	23.735	27,5	301.159	30.969	10,28
Bahia	116.204	36.932	31,8	2.501.955	144.532	5,78
Espírito Santo	34.648	2.385	6,9	387.632	15.891	4,10
Total	1.512.591	245.032	16,2	5.511.365	370.782	6,73

Fonte: secretaria de vigilância em Saúde, ministério da Saúde.

Internações Hospitalares

Este indicador, relacionado à morbidade, é construído a partir das internações hospitalares provocadas pelas seqüelas dos casos graves ou dos casos agudos da doença. A quantificação das internações pode traduzir, indiretamente, as ocorrências de ambulatórios e hospitais de referência. Como as informações de morbidade são geradas em hospitais, a análise deste indicador demanda uma avaliação externa por parte dos condutores de qualquer programa nacional de controle da esquistossomose. Ao se usar o indicador internações hospitalares, devem ser considerados os seguintes aspectos:

- um indivíduo pode ser internado mais de uma vez por ano e provocar superdimensionamento do indicador;
- a internação obedece mais à oferta de serviço e menos à distribuição da doença;
- a internação não contempla os casos leves;
- os casos de esquistossomose podem ser internados com outros diagnósticos.

Na Tabela 6, observa-se que no período de 1984 a 1988 a proporção (por dez mil) de internação por esquistossomose no país aumentou 82,4%, passando de 1,66 para 3,14. Tal crescimento coincide com a instalação gradativa do Sistema de Informação Hospitalar e pode representar aumento de notificação e não aumento real da ocorrência das formas graves. Em seguida, o indicador apresenta uma redução

contínua. No período de 1988 a 2006 a proporção de internações por esquistossomose, em relação a dez mil internações, por todas as causas, diminuiu 74%, passando de 3,14 para 0,4.

Considerando-se a proporção média de internação por esquistossomose nos qüinqüênios 1984-1988, 1989-1993 e 1999-2003, no país como um todo, observa-se que esse indicador passou de 2,55 para 1,02, o que representa uma diminuição de 60% (Gráfico 1).

Tabela 6 – Taxa de internação hospitalar por esquistossomose, por cem mil habitantes. Brasil, 1984 a 2006

Ano	População	Internação por esquistossomose	Taxa
1984	129.025.577	1.483	1,2
1985	131.639.272	1.279	1,0
1986	134.228.492	1.587	1,2
1987	136.780.739	2.706	2,0
1988	139.280.140	3.497	2,5
1989	141.714.953	3.107	2,2
1990	144.090.756	3.080	2,1
1991	146.825.475	3.293	2,2
1992	148.684.120	3.329	2,2
1993	151.556.521	3.322	2,2
1994	153.726.463	2.926	1,9
1995	155.822.296	2.105	1,4
1996	157.070.163	1.656	1,1
1997	159.636.297	1.522	1,0
1998	161.790.182	1.314	0,8
1999	163.947.436	1.344	0,8
2000	169.799.170	1.322	0,8
2001	172.385.776	1.267	0,7
2002	174.632.932	1.105	0,6
2003	176.876.251	1.017	0,6
2004	179.108.251	859	0,5
2005	184.184.074	890	0,5
2006	186.022.071	757	0,4

Fonte: secretaria de vigilância em Saúde, ministério da Saúde.

Gráfico 1 – Número de internação hospitalar por esquistossomose, nos estados com atividades do Programa de Controle da Esquistossomose, nos anos de 2002 e 2006

	RO	PA	MA	PI	CE	RN	PB	PE	AL	SE	BA	MG	ES	RJ	SP	PR	SC	RS	GO	DF
2006	2	5	12	0	13	5	21	166	50	11	216	113	9	17	89	0	1	0	10	9
2002	12	6	22	0	12	7	44	212	150	23	186	237	14	30	126	2	0	1	7	10

Internação hospitalar

Fonte: secretaria de vigilância em Saúde, ministério da Saúde.

Mortalidade

Os dados de mortalidade expressam a gravidade do agravo e são obtidos das declarações de óbitos padronizadas e processadas nacionalmente pelo Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM). Essa base de dados apresenta variáveis graus de cobertura, de subnotificação e de registros com causas indefinidas, dependendo da região do país, o que impõe cautela na análise dos dados (Rouquayrol & Almeida Filho, 2003). No caso de doenças como a esquistossomose o indicador de mortalidade deve ser trabalhado na forma de coeficiente, do mesmo modo que o de prevalência, anteriormente descrito. O coeficiente de mortalidade permite analisar a composição etária dos óbitos, assim como seu local de ocorrência e procedência do caso. Do mesmo modo que as internações, a análise da taxa de mortalidade demanda uma avaliação externa, por parte dos condutores de qualquer programa nacional de controle da esquistossomose. A taxa de mortalidade é um bom indicador para análise de impacto das ações de controle da esquistossomose, se levados em conta os seguintes fatores limitantes:

- o registro do óbito obedece mais à pouca oferta do serviço que à muita ocorrência da doença;
- a evolução crônica da doença e a migração interna dificultam a definição do local de transmissão responsável pelo óbito;
- os óbitos de esquistossomose podem ser registrados com outros diagnósticos.

Por outro lado, como o óbito é um evento único, fica restrita a possibilidade de superdimensionamento desse indicador. Na Tabela 7 são apresentados os dados consolidados para o país e observa-se nos três

primeiros anos de implantação do Sistema de Informação de Mortalidade um pequeno aumento da taxa, passando de 0,67, em 1977, para 0,71, em 1979. Em seguida, o indicador apresenta uma redução sustentada, com pequenas variações ao longo do período. No período de 1979 a 2005, a taxa de mortalidade por esquistossomose, por cem mil habitantes, diminuiu 61%, passando de 0,71 para 0,3. Considerando a taxa média dos qüinqüênios 1977-1981 (0,68) e 1998-2002 (0,29) a redução foi de 57%.

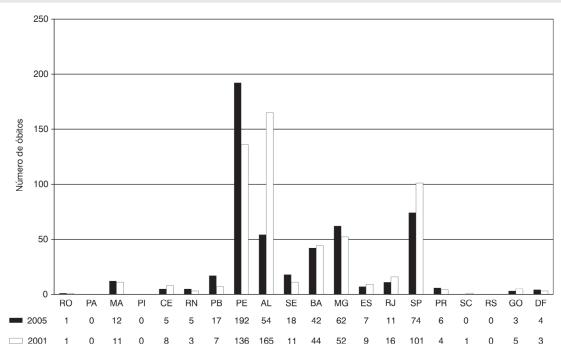
Tabela 7 – Taxa de mortalidade por esquistossomose, por cem mil habitantes. Brasil, 1977 a 2005

Ano	População	Óbito	Taxa
1977	109.984.679	740	0,7
1978	112.757.285	763	0,7
1979	114.651.243	818	0,7
1980	119.011.052	834	0,7
1981	121.154.159	759	0,6
1982	123.774.229	696	0,6
1983	126.403.352	705	0,6
1984	129.025.577	697	0,5
1985	131.639.272	673	0,5
1986	134.228.492	701	0,5
1987	136.780.739	670	0,5
1988	139.280.140	724	0,5
1989	141.714.953	589	0,4
1990	144.090.756	550	0,4
1991	146.825.475	553	0,4
1992	148.684.120	551	0,4
1993	151.556.521	586	0,4
1994	153.726.463	588	0,4
1995	155.822.296	608	0,4
1996	157.070.163	450	0,3
1997	159.636.297	505	0,3
1998	161.790.182	479	0,3

Tabela 7 – Taxa de mortalidade por esquistossomose, por cem mil habitantes. Brasil, 1977 a 2005 (continuação)

Ano	População	Óbito	Taxa
1999	163.947.436	446	0,3
2000	169.799.170	484	0,3
2001	172.385.776	583	0,3
2002	174.633.932	568	0,3
2003	176.876.251	464	0,3
2004	184.184.074	519	0,3
2005	186.020.071	514	0,3

Fonte: secretaria de vigilância em Saúde, ministério da Saúde.

Gráfico 2 – Número de óbitos por esquistossomose, nos estados com atividades do Programa de Controle da Esquistossomose, nos anos de 2001 e 2005

Fonte: secretaria de vigilância em Saúde, ministério da Saúde.

ESTRATÉGIAS ATUAIS E PERSPECTIVAS DE CONTROLE DA ESQUISTOSSOMOSE NO BRASIL

No Brasil, as estratégias de avaliação e controle da esquistossomose têm acompanhado as diretrizes da OMS, ajustando-as às nossas características epidemiológicas. Atualmente, a seguinte estratégia é recomendada pelo ministério da Saúde, tendo como objetivo evitar a ocorrência de formas graves e óbitos, reduzir a prevalência da infecção e impedir a expansão geográfica da endemia:

- identificação dos portadores da infecção por intermédio de inquéritos coproscópicos bienais, a cargo das secretarias municipais de saúde das áreas endêmicas;
- tratamento seletivo dos portadores, visando reduzir a carga parasitária e impedir o aparecimento de formas graves.

O diagnóstico e o tratamento dos portadores envolvem a participação das equipes do PSF, atuando em conjunto com os agentes de saúde do Programa de Controle da Esquistossomose (PCE). Essas ações são viabilizadas, incorporadas e integradas à rotina dos serviços de atenção primária à saúde.

A educação em saúde precede e acompanha todas as atividades de controle e se fundamenta em estudos comportamentais das populações em risco. As ações de educação e mobilização comunitária, realizadas pelos agentes de saúde e por profissionais das unidades básicas, têm como público-alvo a população em geral e os escolares das localidades situadas em áreas endêmicas. São utilizados várias técnicas pedagógicas e meios de comunicação de massa para promover atitudes e práticas capazes de modificar as condições favorecedoras e mantenedoras da transmissão.

As ações de saneamento ambiental são reconhecidas como as de maior eficácia para as modificações, em caráter permanente, das condições favoráveis à transmissão da esquistossomose (Tabela 8). Tais ações incluem coleta e tratamento de dejetos, abastecimento de água potável, provimento de instalações hidráulicas e sanitárias, criação de aterros para eliminação de coleções hídricas que sejam criadouros de moluscos, drenagens, limpeza e retificação de margens de córregos e canais e construção de pequenas pontes.

Tabela 8 – Número de domicílios beneficiados com melhorias sanitárias pelo ministério da Saúde. Brasil, 1979 a 2005

Ano	Melhorias Sanitárias*	Domicílios Beneficiados
1979	82.444	16.489
1980	96.270	19.254
1981	95.097	19.019
1982	108.361	21.672
1983	132.674	26.535
1984	139.601	27.920
1985	131.516	26.303

Tabela 8 – Número de domicílios beneficiados com melhorias sanitárias pelo Ministério da Saúde. Brasil, 1979 a 2005 (continuação)

Ano	Melhorias Sanitárias*	Domicílios Beneficiados
1986	128.789	25.758
1987	148.760	29.752
1988	154.299	30.860
1989	167.399	33.480
1990	150.677	30.135
1991	175.279	35.056
1992	161.275	32.255
1993	134.205	26.841
1994	167.673	33.535
1995	170.469	34.094
1996	220.071	44.014
1997	143.624	28.725
1998	193.730	38.746
1999	249.331	49.866
2000	217.920	43.584
2001	123.472	24.694
2002	222.460	44.492
2003	241.699	48.340
2004	160.862	32.172
2005	80.951	16.190

* Melhorias sanitárias compreendem: abastecimento de água, reservatórios, banheiros, sanitários, tanques de lavar roupas e louças.

Fonte: secretaria de vigilância em Saúde, ministério da Saúde.

As ações dirigidas ao controle dos hospedeiros intermediários são de natureza complementar e incluem o levantamento malacológico das coleções hídricas para determinação do seu potencial de transmissão e a aplicação de moluscicidas nos criadouros de importância epidemiológica. Essas ações são indicadas na cobertura de áreas ainda não trabalhadas, na investigação e controle de focos ativos de transmissão e em áreas bem delimitadas com altas prevalências.

DESCENTRALIZAÇÃO DOS SERVIÇOS DE SAÚDE E O PAPEL DOS MUNICÍPIOS NO CONTROLE DA ESQUISTOSSOMOSE

A reprodução de doenças transmissíveis, como a esquistossomose, são favorecidas pela manutenção de um elenco de fatores determinantes, entre eles a intervenção humana sobre o meio ambiente e os modos de ocupação do espaço. Existe um acúmulo de evidências científicas mostrando que as condições socioeconômicas e culturais estão fortemente associadas às taxas de morbidade e invalidez e que medidas preventivas e mudanças nas condições de vida são elementos indispensáveis para o controle das doenças endêmicas (Ximenes, Southgate & Smith, 1994).

No Brasil, as políticas estaduais e municipais de controle das endemias ainda são direcionadas para ações curativas, como se fossem doenças de atributos somente biológicos e individuais e não resultantes de um processo histórico e social. Os fatores socioculturais e ecológico-ambientais raramente são incorporados às ações de controle e essa desarticulação entre a produção do conhecimento macroepidemiológico e a definição das políticas de saúde resulta na baixa efetividade dos programas para o controle da esquistossomose, que ficam limitados às ações de intervenção na cadeia biológica de transmissão (Carmo, 1998).

Nas últimas décadas, importantes avanços tecnológicos foram obtidos tanto nos métodos de diagnóstico e na clínica, como na terapêutica da esquistossomose. Desenvolveram-se e importaram-se tecnologias caras, algumas de discutível necessidade diante da realidade de um país onde a esquistossomose e outras doenças parasitárias ainda têm expressiva morbidade entre as populações menos favorecidas.

Até 1991, a Funasa era o órgão responsável pelo controle da doença em todo o país, tendo realizado vários censos parasitológicos. Mais recentemente, a partir da proposta de descentralização das ações de saúde, construída nas 8ª e 9ª Conferências Nacionais de Saúde e normatizada pela Reforma Sanitária, o diagnóstico e o controle da doença passaram a ser responsabilidade dos serviços municipais de saúde.

Em 1999, com a descentralização das ações da Funasa, o ministério da Saúde criou a Programação Pactuada Integrada de Epidemiologia e Controle de Doenças (PPI/ECD). Assim, os estados e seus municípios passaram a ter verba para gerir as ações de vigilância e controle da esquistossomose. Esses recursos são transferidos diretamente para os fundos estaduais e municipais, visando estabelecer um fluxo mais rápido e constante para evitar descontinuidades na execução das ações.

Além dos recursos financeiros, os estados e seus municípios receberam da Funasa imóveis, equipamentos, veículos e os recursos humanos que, até 1999, desenvolviam as ações locais nas coordenações regionais. Como contrapartida, os estados e municípios passaram a alocar recursos humanos e materiais para a execução das ações de vigilância e controle da doença e a repassar os dados para o recém-criado Sistema de Informação em Saúde (SIS).

Recentemente, a esquistossomose passou a ser um agravo de notificação compulsória. Todas as informações que o ministério da Saúde detém sobre a doença passaram a depender dos municípios, que as repassam para as secretarias estaduais de saúde. Por fim, essas últimas consolidam os dados e alimentam o SIS. Esse sistema oferece indicadores secundários do impacto dos programas de controle da

esquistossomose, constituindo-se numa importante fonte de informações para a análise de dados referentes à notificação de casos positivos (Sinan), de internação hospitalar (SHI) e de mortalidade (SIM) por esquistossomose. Dependendo do detalhamento das fichas de investigação, é possível obter informações sobre os seguintes aspectos:

- número de casos notificados no período;
- número de municípios que notificaram a doença;
- dados individuais dos pacientes (sexo, idade, área de residência, escolaridade, tipo de tratamento, local provável de contaminação).

Cabe ainda, aos municípios, definir suas prioridades de intervenção para o controle da endemia mediante duas abordagens de promoção à saúde, que não devem ser exclusivas: a melhoria das condições físicas do indivíduo, representadas por ações curativas, e a promoção de mudanças ambientais nas comunidades, buscando a melhoria das condições de vida como um todo e entendendo a esquistossomose não como um fenômeno biológico individual, mas como um agravo à saúde complexo, gerado por contextos sociais específicos.

Este modelo descentralizado de atenção à saúde permite o controle da doença em nível local, por intermédio da rede de postos do Programa Saúde da Família (PSF) (Figura 7), articulando ações de diagnóstico, informação e prevenção específicas, com a clara intenção de evitar a superposição e/ou omissão de ações que ocorriam quando as atribuições de cada nível não estavam bem definidas.

Figura 7 – Unidade do Programa Saúde da Família no município de Itambé (Pernambuco), onde são prestados serviços básicos de saúde

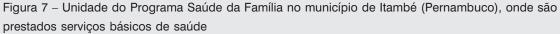
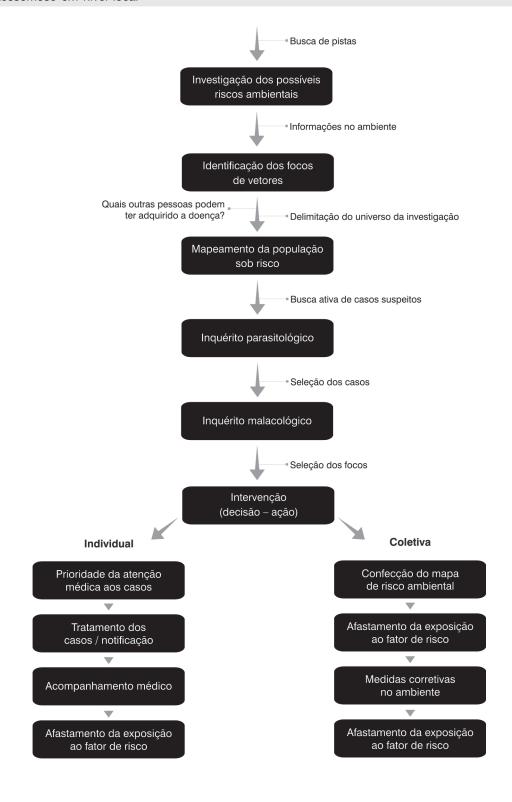
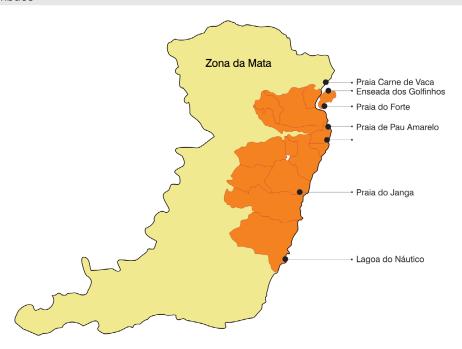



Figura 8 – Cronograma esquemático para a realização de uma investigação epidemiológica da esquistossomose em nível local

A EPIDEMIOLOGIA DA ESQUISTOSSOMOSE: O CASO PERNAMBUCO

Pernambuco é um dos estados que apresenta as mais altas prevalências humanas para esquistossomose em áreas rurais da Zona da Mata, onde cerca de um quarto das localidades tem prevalência acima de 25%. Segundo o censo demográfico de 2000, aproximadamente cinco milhões de pessoas residem na área endêmica, o que coloca 62% da população total do estado de Pernambuco sob risco de infecção (Favre et al., 2001).

Por este motivo, neste capítulo sobre epidemiologia e controle da esquistossomose mansoni recortou-se o estado de Pernambuco como modelo didático para exemplificação dos modos de transmissão e controle da doença. Um outro critério de seleção foram os dados disponíveis e a experiência de um grupo de pesquisa que vem trabalhando há vinte anos no conhecimento epidemiológico e no controle desta doença em Pernambuco. As publicações do referido grupo enfatizam a ecologia e o controle dos moluscos hospedeiros intermediários (Barbosa & Costa, 1981; Barbosa & Barbosa, 1994, 1995; Barbosa et al., 1992; Barbosa, 1996; Barbosa, Barbosa & Arruda, 1993; Bogéa et al., 1996; Dannemann & Pieri, 1989, 1992, 1993a, 1993b; Favre et al., 1995, 1997; Gazin, Melo & Barbosa, 2002; Pieri, 1995; Pieri & Thomas, 1986, 1987, 1992; Pieri, Barbosa & Moza, 1998; Sarquis, Pieri & Santos, 1997; Sarquis et al., 1998), os determinantes ecológicos e epidemiológicos da doença (Barbosa, 1997a, 1997b, 1992b, 1998; Barbosa & Barbosa, 1980, 1997; Gonçalves et al., 1992; Barbosa, Silva & Barbosa, 1996; Barbosa et al., 1998, 2001a, 2001b, 2004; Barbosa, Pieri & Moza, 1998; Barbosa & Gouveia, 2000; Barbosa, Pieri & Barbosa, 2000; Barbosa & Pieri, 2000; Simões-Barbosa, Simões-Barbosa & Simões-Barbosa, 2001; Coutinho et al., 1997; Beck et al., 2001) e o impacto do tratamento quimioterápico dos portadores da infecção sobre a sua dinâmica de transmissão (Favre, 1999; Moza et al., 1998; Favre et al., 2002; Pieri, Barbosa & Moza, 1998; Zani et al., 2004).

A existência de casos e focos de transmissão em quase todos os municípios da Zona da Mata, as altas prevalências registradas em localidades rurais e a estimativa da população sob risco de infecção deixam claro que a esquistossomose é ainda hoje um sério problema de saúde pública no estado. A manutenção da endemia nas áreas rurais está relacionada ao baixo desenvolvimento econômico da região, devido ao modelo agrícola voltado para a monocultura e formado por grandes latifúndios que concentram capital e terras produtivas, deixando inativa uma expressiva força humana de trabalho. A expansão da doença para áreas indenes do litoral e da região metropolitana do Recife é determinada, em última instância, pelo movimento migratório de trabalhadores rurais (infectados pelo parasito) que, em busca de sobrevivência, são atraídos para as periferias dos grandes centros urbanos e para os pólos turísticos do litoral. Esse movimento acarreta a ocupação desordenada e a modificação dos espaços urbanos, contribuindo para a favelização de comunidades que passam a viver sob condições insalubres na periferia das cidades. Esse processo de ocupação vem impondo o estabelecimento de novos focos urbanos e de sucessivos relatos de casos agudos da doença no litoral de Pernambuco. Hoje, é possível encontrar focos de transmissão em municípios litorâneos como Goiana (praia Carne de Vaca), Itamaracá (praia do Forte e enseada dos Golfinhos), Paulista (praias de Janga e Pau Amarelo), Jaboatão dos Guararapes (lagoa do Náutico) e Ipojuca (praia de Porto de Galinhas) (Figura 9).

Figura 9 – Localização dos focos de transmissão da esquistossomose nos municípios litorâneos do estado de Pernambuco

O surto de esquistossomose aguda ocorrido na praia de Porto de Galinhas, em 2000, ilustra claramente o processo de expansão da esquistossomose da área rural para áreas litorâneas (Barbosa, Silva & Barbosa, 1996, Barbosa et al., 1998, 2004; Barbosa, Pieri & Barbosa, 2000; Barbosa & Pieri, 2000). Naquela ocasião, 662 pessoas foram encontradas infectadas, sendo 62% dos casos diagnosticados como forma clínica aguda (Barbosa et al., 2001b). Os moluscos vetores foram introduzidos na localidade pelo transporte de areia para aterrar terrenos pantanosos, onde sobreviveram e foram contaminados por vazamentos de fossas com fezes de indivíduos parasitados por *S. mansoni*. Intensas precipitações pluviométricas ocasionaram enchentes e estes caramujos infectados foram levados para as ruas e casas de Porto de Galinhas, fazendo com que 2/3 da população de residentes e veranistas ficassem expostos ao risco de infecção.

Um outro modo de transmissão, condicionado pela falta de informação e acarretado por modificações ambientais, começa a se delinear em Pernambuco. Famílias de classe média/alta, residentes na região metropolitana do Recife, fazem movimento migratório inverso, buscando, nos finais de semana, lazer e tranqüilidade no campo. Residências campestres e antigos engenhos de cana de açúcar, situados em áreas rurais sabidamente endêmicas para esquistossomose, promovem atividades de lazer relacionadas a banhos de rio e cachoeiras onde casos agudos da doença têm sido registrados. Estes cenários apontam para uma mudança no perfil epidemiológico da doença em Pernambuco. Em áreas rurais, a esquistossomose continua a se apresentar predominantemente na forma clínica de doença crônica, incidindo na classe social de baixa renda e tendo como espécie vetora *B. straminea*. No litoral, a doença é representada por casos agudos em pessoas de classe média/alta, sendo transmitida pela espécie *B. glabrata* (Barbosa et al., 2001a).

Na Zona da Mata pernambucana, área endêmica da esquistossomose no estado, cinco campanhas de controle foram implementadas pelo ministério da Saúde entre 1977 e 1996, cada uma incluindo inquérito

parasitológico e tratamento dos portadores da infecção. As ações implementadas provocaram um impacto substancial, com queda na positividade dos resultados encontrados na maioria dos municípios daquela área, no período de atuação do Pece (1997 a 1980). Nas campanhas posteriores, levadas a efeito pelo PCE, o impacto na positividade foi menor, provavelmente devido à irregularidade dos intervalos de tempo entre cada campanha (Favre et al., 2001). O último censo parasitológico no estado foi realizado na época da quarta avaliação do PCE, de 1988 a 1996, quando a prevalência média foi de 26,2%.

Recentemente, o Serviço de Referência em Esquistossomose do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães/ Fiocruz foi subsidiado pelo Programa Promata, da Secretaria de Planejamento do Estado de Pernambuco, para realizar um inquérito que permitisse avaliar a atual situação epidemiológica da esquistossomose na Zona da Mata pernambucana. Este inquérito foi realizado em 2005, em colaboração com o Laboratório de Eco-Epidemiologia e Controle da Esquistossomose e Geohelmintoses do Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, por intermédio de exames coproscópicos Kato-Katz em amostras representativas de escolares em cada município da Zona da Mata (Barbosa et al., 2006).

Esse inquérito mostrou que a situação da esquistossomose em 26 (60,4%) dos 43 municípios da ZMP inspira atenção especial, já que os níveis de positividade e/ou intensidade de infecção encontrada no grupo-alvo dessa pesquisa indicam um risco considerável de transmissão e morbidade não só nas crianças em idade escolar, mas na população como um todo. É urgente, portanto, a priorização de medidas de controle da esquistossomose nesses municípios, envolvendo tratamento quimioterápico das crianças em idade escolar (estejam ou não freqüentando a escola) e outros grupos de alto risco, bem como saneamento e manejo ambiental, além de estratégias de informação, educação e comunicação (IEC) nas comunidades próximas às escolas com maior prevalência.

Os serviços locais de saúde devem ser aparelhados para cumprir os princípios de descentralização definidos pelo SUS de forma auto-sustentável, e que se refletem nas seguintes atividades:

- capacitação e treinamento de recursos humanos para dar conta das ações de diagnóstico parasitológico, epidemiológico e malacológico, e para a aplicação de estratégias de IEC;
- planejamento dos inquéritos epidemiológicos, que incluem desde a coleta de fezes, passando pela identificação dos moluscos hospedeiros intermediários, até a caracterização ecológica dos focos de transmissão;
- escolha e implementação de estratégias adequadas de controle quimioterápico e ambiental;
- avaliação do impacto das medidas de controle.

REFERÊNCIAS

AROUCA, A. S. S. Reforma Sanitária Brasileira. *Tema Radis*, 6(11): 2-4, 1998.

BARBOSA, C. S. Epidemiologia da esquistossomose mansônica no engenho Bela Rosa, município de Vitória de Santo Antão, Pernambuco. *Cadernos de Saúde Pública*, 8(1): 83-87, 1992.

BARBOSA, C. S. Cultivo em massa de *Biomphalaria straminea*. In: BARBOSA, F. S. (Org.) *Tópicos em Malacologia Médica*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1996.

BARBOSA, C. S. Padrão epidemiológico da esquistossomose em comunidade de pequenos agricultores de Pernambuco. *Cadernos de Saúde Pública*, 14(1): 129-137, 1997a.

BARBOSA, C. S. Esquistossomose em Pernambuco: determinantes bio-ecológicos e sócio-culturais em comunidade de pequenos agricultores da zona da mata. Tese de Doutorado, (resumo). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 30(04): 347-348, 1997b.

BARBOSA, C. S. Epidemiology and Anthropology : an integrated approach dealing with bio-socio-cultural aspects as strategy for the control of endemic diseases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93(01): 52-62, 1998.

BARBOSA, C. S. & BARBOSA, F. S. Dispersão de *Biomphalaria straminea* no estado de Sergipe: um estudo comparativo. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 84(3): 383-387, 1980.

BARBOSA, C. S. & BARBOSA, F. S. Controle biológico dos moluscos transmissores da esquistossomose: competição interespecífica entre *Biomphalaria glabrata* x *Biomphalaria straminea*. In: BARBOSA, F. S. (Org.) *Tópicos em Malacologia Médica*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1995.

BARBOSA, C. S. & BARBOSA, F. S. Padrão epidemiológico da esquistossomose em comunidade rural de Pernambuco. *Cadernos de Saúde Pública*, 14(1): 129-137, 1997.

BARBOSA, C. S. & GOUVEIA, G. C. La schistosome intestinale et son controle dans le Nord-Est du Brèsil. *Cahiers Santè*, 9: 11-13, 2000.

BARBOSA, C. S. & PIERI, O. Aspectos epidemiológicos e malacológicos da esquistossomose mansônica na Ilha de Itamaracá, Pernambuco. *Revista de Saúde Pública*, 34(4): 33-41, 2000.

BARBOSA, C. S.; BARBOSA, F. S. & ARRUDA, F. Long term controlled field experiment on the competition between two species of *Biomphalaria*, the snail vectors of *S. mansoni* in Northeastern Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, 9(2): 71-76, 1993.

BARBOSA, C. S.; PIERI, O. & BARBOSA, F. S. Ecoepidemiologia da esquistossomose urbana na Ilha de Itamaracá. *Revista de Saúde Pública*, 34(4): 337-341, 2000.

BARBOSA, C. S.; SILVA, C. B. & BARBOSA, F. S. Esquistossomose em Pernambuco: reprodução e expansão da doença. *Revista de Saúde Pública*, 6: 609-619, 1996.

BARBOSA, C. S.; PIERI, O. & MOZA, P. Schistosomiasis control based on repeated chemotherapy in a rural village of Northeast Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, 93(1): 259-264, 1998.

BARBOSA, C. S. et al. Urban Schistosomiasis in Itamaracá Island, Brazil: epidemiological factors involved in the recent endemic process. *Cadernos de Saúde Pública*, 93(1): 265-266, 1998.

BARBOSA, C. S. et al. Specific situations related to acute schistosomiasis in Pernambuco, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 169-172, 2001a.

BARBOSA, C. S. et al. Epidemia de esquistossomose aguda na praia de Porto de Galinhas, Pernambuco, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 17(3): 725-728, 2001b.

BARBOSA, C. S. et al. Spacial distribution of *Schistosoma mansoni* foci in Itamaracá Island, Pernambuco, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99: 79-83, 2004.

BARBOSA, C. S. et al. Assessment of schistosomiasis through scholl surveys in the forest zone of Pernambuco, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101: 55-62, 2006.

BARBOSA, F. S. & BARBOSA, C. S. The bioecology of snail vectors for *Schistosomiasis* in Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, 10(2): 200-209, 1994.

BARBOSA, F. S. & COSTA, D. P. P. A long-term schistosomiasis control project with molluscicide in a rural area of Brazil. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 75(1): 41-52, 1981.

BARBOSA, F. S. et al. Dinamics of snail populations of *Biomphalaria* under semi-natural conditions. *Cadernos de Saúde Pública*, 8(2): 157-167, 1992.

BECK, L. et al. Replacing oxaminiquine by praziquantel against *S. mansoni* infection in a rural community of northeast Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 165-167, 2001.

BINA, J. C. Influência da terapêutica específica na evolução da esquistossomose mansoni. *Revista de Patoogial Tropical*, 10: 221-267, 1981.

BINA, J. C. & PRATA, A. Regressão da hepatoesplenomegalia pelo tratamento específico da esquistossomose. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 16: 213-218, 1983.

BOGÉA, T. et al. Circadian pattern of cercarial emergence of *Schistosoma mansoni* from isolated *Biomphalaria glabrata. Chronobiology International*, 13: 93-101, 1996.

CARMO, E. H. Contribuição de novos pressupostos para o controle de endemias. In: BARRETO, M. et al (Coord.). *Epidemiologia, Serviços e Tecnologias em Saúde.* Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, Abrasco, 1998.

COURA FILHO, P. et al. The prolonged use of niclosamide as a molluscicide for the control of *Schistosoma mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 34: 427-431, 1992.

COURA, J. R. Control of schistosomiasis in Brazil: perspectives and proposals*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90 (2): 257-260, 1995.

COURA, J. R. & AMARAL, R. S. Epidemiological and control aspects of schistosomiasis in Brasilian endemic areas. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99, supl. 1: 13-19, 2004.

COUTINHO, E. et al. Factors involved in *Schistosoma mansoni* infection in rural areas of Northeast Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92(5): 707-715, 1997.

DANNEMANN, R. D. A. & PIERI, O. S. Anidrobiose e diapausa em *Biomphalaria glabrata*, caramujo transmissor da esquistossomose na Região Nordeste. *Biotemas*, 2(1): 57-68, 1989.

DANNEMANN, R. D. A. & PIERI, O. S. Lamella formation and emigration from the water by a laboratory colony of *Biomphalaria glabrata* in a flow through system. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87(5): 87-90, 1992.

DANNEMANN, R. D. A. & PIERI, O. S. Emigration from the water and lamella formation by *Biomphalaria glabrata* (Say) from different localities in the endemic areas of Schistosomiasis in Brazil. *Journal of Medical Applied Malacology*, 5: 31-37, 1993a.

DANNEMANN, R. D. A. & PIERI, O. S. Prolonged survival out of Water of polymorphic *Biomphalaria glabrata* from a seasonally drying habitat of northeast Brazil. *The Journal of Molluscan Studies*, 59: 265-267, 1993b.

FAVRE, T. C. *Impacto da Quimioterapia com Oxamniquine sobre a Infecção por* Schistosoma mansoni *em duas Localidades da Zona Litoral-Mata de Pernambuco*, 1999. Tese de Doutorado, Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz.

FAVRE, T. C. et al. Cercarial emergence of *Schistosoma mansoni* from *Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria straminea. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90: 565-567, 1995.

FAVRE, T. C. et al. Circadian rhythms in the cercarial emergence of *Schistosoma mansoni* by *Biomphalaria tenagophila* at outdoors: a comparative study with *Biomphalaria glabrata*. *Biological Rhythm Research*, 28: 348-357, 1997.

FAVRE, T. C. e t al. Avaliação das ações de controle da esquistossomose implementadas entre 1977 e 1996 em Pernambuco. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 34 (6): 569-576, 2001.

FAVRE, T. C. et al. A longitudinal study on the natural infection of *Biomphalaria straminea* and *B. glabrata* by *Schistosoma mansoni* in an endemic area of schistosomiasis in Pernambuco, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97(4): 465-475, 2002.

GAZIN, P.; MELO, G. & BARBOSA, C. S. Eau et Santé dans le Nordest semi-arid du Brésil. *Secheresse*, 04 (13): 284-288, 2002.

GONÇALVES, F. et al. Esquistossomose aguda de caráter episódico, na ilha de Itamaracá, Pernambuco, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 7(3): 424-425, 1992.

KATZ, N. Schistosomiasis Control in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93(1): 33-35, 1998.

KATZ, N. & PEIXOTO, S. V. Análise crítica da estimativa do número de portadores de esquistossomose mansoni no Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 33: 303-308, 2000.

KATZ, N.; CHAVES, A. & PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in schistosomiasis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 14: 397-402, 1972.

KLOETZEL, K. A suggestion for prevention of severe clinical forms of schistosomiasis. *Bulletin of the World Health Organization*, 37: 686-687, 1967.

LARDANS, V. & DISSOUS, C. Snail control strategies for reduction of schistosomiasis transmission. *Parasitology Today*, 14: 413-417, 1998.

LIMA E COSTA, M. F. F. et al. A 13-year follow up of treatment and snail control in a area endemic for *Schistosoma mansoni* in Brazil: incidence of infection and reinfection. *Bulletin of the World Health Organization*, 71: 197-205, 1993.

MACHADO, A. P. The Brazilian program for schistosomiasis control. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 31: 76-86, 1982.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Controle de Endemias, Secretaria Executiva*. Brasília: Ministério da Saúde, 2000.

MOZA, P. et al. Fatores sócio-demográficos e comportamentais relacionados à esquistossomose em uma agrovila da zona canavieira de Pernambuco, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 141: 107-115, 1998.

PASSOS, A. & AMARAL, R. Esquistossomose mansônica: aspectos epidemiológicos e de controle. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 31(II): 61-64, 1998.

PELLÓN, A. B. & TEIXEIRA, I. *Distribuição Geográfica da Esquistossomose Mansônica no Brasil*. Rio de Janeiro: Divisão da Organização Sanitária, 1950.

PIERI, O. S. Perspectivas no controle ambiental dos moluscos vetores da esquistossomose. In: BARBOSA, F. S. (Org) *Tópicos em Malacologia Médica*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1995.

PIERI, O. S. & THOMAS, J. D. Polymorphism in a laboratory population of *Biomphalaria glabrata* from seasonally drying habitat in northeast Brazil. *Malacologia*, 27: 313-321, 1986.

PIERI, O. S. & THOMAS, J. D. Snail control in the eastern coastal areas of northeast Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82(2): 197-201, 1987.

PIERI, O. S. & THOMAS, J. D. Introductions of morphological, behavioural and physiological changes in a polymorphic of *Biomphalaria glabrata* by an environmental factor of predictive value. *Journal of Medical Applied Malacology*, 4: 43-53, 1992.

PIERI, O. S.; BARBOSA, C. S. & MOZA, P. G. Schistosomiasis control base don repeated chemotherapy in a rural village of the sugar-cane zone in Northeast Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93(1): 259-264, 1998.

PIERI, O. S.; FELIPE, J. G. & SARQUIS, O. Repeated focal mollusciciding for snail control in a sugar-cane area of northeast Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90: 535-536, 1995.

REY, L. *Dicionário de Termos Técnicos de Medicina e Saúde*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

ROSS, A. G. P. et al. Current concepts: schistosomiasis. *The New England Journal Medicine*, 346(16): 1.212-1.220, 2002.

ROUQUAYROL, M. Z. & ALMEIDA FILHO, N. *Epidemiologia e Saúde*. 6. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2003.

SARQUIS, O.; PIERI, O. S. & SANTOS, J. A. Effects of Bayluscide Wp-70 on the survival and water leaving behaviour of *Biomphalaria straminea*, snail host of schistosomiasis in northeast Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92: 619-623, 1997.

SARQUIS, O. et al. Effects of Bayluscide Wp-70 on the kinetic behaviour of *Biomphalaria straminea* in laboratory conditions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93(1): 239-241, 1998.

SCHALL, V. T. et al. The control of the schistosome-transmitting snail *Biomphalaria glabrata* by the plant molluscicide *Euphorbia splendens* : a longitudinal field study in an endemic area in Brazil. *Acta Tropica*, 79 (2): 165-170, 2001.

SIMÕES-BARBOSA, A.; SIMÕES-BARBOSA, C. & SIMÕES-BARBOSA, F. A historical perspective and prospects of biomedical research on parasitic diseases. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 43(4): 209-212, 2001.

STURROCK, R. F. Current concepts of snail control. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90: 241-248, 1995.

WEBBE, G. & JORDAN, P. Control. In: JORDAN, P.; WEBBE, G. & STURROCK, R. *Human Schistosomiasis*. Cambridge: Cambridge University Press, 1993.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) 1953. *WHO Expert Committee on Bilharziasis: first report*. Geneva: WHO, 1953. (Technical Report Series, 65)

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) *Moluscicides. Second Report of the Expert Committee on Bilharziasis: first report*. Geneva: WHO, 1961. (Technical Report Series, 214)

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *WHO Expert Committee on Bilharziasis: third report*. Geneva: WHO, 1965. (Technical Report Series, 299)

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Epidemiology and Control of Schistosomiasis: report of a WHO Expert Committee*. Geneva: WHO, 1967. (Technical Report Series, 372)

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Schistosomiasis Control*. Geneva: WHO, 1973. (WHO Technical Report Series, 515)

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Epidemiology and Control of schistosomiasis: report of a WHO Expert Committee*. Geneva: WHO, 1980.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *The Control of Schistosomiasis: report of a WHO Expert Committee*. Geneva: WHO, 1985. (Technical Report Series, 728)

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *The Role of Mollusciciding in Schistosomiasis Control*. Geneva: WHO/SCHISTO, 1992.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *The Control of Schistosomiasis: second report of a WHO Expert Committee*. Geneva: WHO, 1993. (Technical Report Series, 830)

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Prevention and Control of Schistosomiasis and Soil-transmitted Helminthiasis: report of a WHO Expert Committee*. Geneva: WHO, 2002. (Technical Report Series, 912)

XIMENES, R. A. A.; SOUTHGATE, B & SMITH, P. Controle da Esquistossomose. In: MALTA, J. (Coord.) *Esquistossomose Mansônica*. Recife: Editora Universitária UFPE, 1994.

ZANI, L. C. et al. Impact of antihelminthic treatment on infection by *Ascaris lumbricoides, Trichuris trichiura* and hookworms in a rural community of Pernambuco, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 46(2): 63-71, 2004.

34 Desenvolvimento de Vacinas para Esquistossomose Mansoni: estado atual e perspectivas

Frederico G. C. Abath
Naftale Katz

Vacinação contra a poliomielite.

No dia 14 de maio de 2006, historiadores, médicos e cientistas celebraram o terceiro centenário da primeira vacinação contra varíola realizada pelo inglês Edward Jenner, utilizando um vírus relacionado, porém menos virulento. Em conseqüência desta descoberta, a varíola, que por séculos foi um tormento para a humanidade, foi erradicada em 1980. Contudo, muitas outras doenças infecciosas continuam representando desafios às estratégias profiláticas de controle, incluindo as doenças parasitárias humanas, para as quais não existem vacinas comercializáveis.

Neste capítulo sobre desenvolvimento de vacinas para a esquistossomose mansoni, pretende-se: apresentar as evidências para resistência adquirida na esquistossomose; discutir as estratégias que são usadas para identificar antígenos potencialmente protetores; dar ênfase àqueles candidatos a vacina que foram mais bem caracterizados, em nível molecular, e encontram-se em etapa mais avançada de experimentação; considerar alguns problemas que ainda precisam ser solucionados para que uma vacina possa ser aplicada em grande escala em seres humanos; comentar sobre as implicações de uma vacina para o controle da esquistossomose.

As mais bem-sucedidas vacinas desenvolvidas e licenciadas até hoje são as que agem contra infecções agudas bacterianas e viróticas. Para algumas doenças infecciosas, vacinas bastante eficazes foram desenvolvidas de maneira empírica e com base em um conhecimento mínimo dos mecanismos imunológicos envolvidos (Hilleman, 1998). Entretanto, no caso das doenças causadas por patógenos que exibem variação antigênica extensa ou causam infecções crônicas e persistentes, como é o caso das doenças parasitárias, as dificuldades e fracassos sugerem que um entendimento muito claro da biologia dos organismos envolvidos e da natureza da resposta imune estimulada seja necessário, antes que se consiga uma vacina protetora.

Sem dúvida alguma, as vacinas estão entre as estratégias menos dispendiosas e mais poderosas para a prevenção de doenças e óbitos decorrentes. Isto é particularmente importante porque as doenças infecciosas e parasitárias permanecem como importantes causas de óbitos no mundo (WHO, 2004a). Entre as doenças infecciosas, os parasitos e mais recentemente o *human immunodeficiency vírus* (HIV) são patógenos preocupantes, haja vista que não são passíveis de prevenção pela vacinação e a coexistência de ambos pode ser desastrosa.

A esquistossomose é uma doença crônica, às vezes debilitante, que afeta mais de duzentos milhões de indivíduos no mundo. É endêmica em 74 países em desenvolvimento, com mais de 80% das pessoas infectadas residindo na África. A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que a pesquisa se concentre no desenvolvimento e avaliação de novas estratégias e ferramentas de controle da doença (WHO, 2004b). A introdução, durante a última década, do tratamento da doença com drogas seguras e efetivas como o praziquantel e a oxamniquine, juntamente com o desenvolvimento do conceito de controle de morbidade em vez de controle de transmissão, levou algumas pessoas a imaginarem que ferramentas alternativas para o controle de esquistossomose não eram mais necessárias. Embora, usualmente, após o tratamento em massa com drogas, haja uma redução na prevalência e intensidade de infecção, com a diminuição da incidência e da prevalência de formas graves, a reinfecção em áreas de intensa transmissão ocorre rapidamente. A necessidade de tratamentos repetidos em intervalos curtos de dois a três anos, com custos operacionais importantes, justifica o desenvolvimento de estratégias de controle alternativas que possam ter um efeito mais duradouro. Entre estas medidas pode ser incluído o desenvolvimento de uma vacina eficiente e de baixo custo (Butterworth, 1992; Dunne, Hagan & Abath, 1995). Contudo, do ponto de vista estratégico e operacional, uma vacina provavelmente deverá ser usada juntamente com o tratamento com droga e outras medidas de controle (Bergquist et al., 2002). O tratamento com drogas causaria uma redução da carga parasitária a curto prazo, ao passo que a vacina produziria proteção de longo prazo. Existem modelos matemáticos que mostram que esta estratégia seria benéfica mesmo na ausência de proteção absoluta (Chan, Woolhouse & Bundy, 1997). No entanto, as medidas ligadas ao saneamento básico e mudanças no meio devem ser priorizadas, para que o controle da transmissão seja alcançado.

EVIDÊNCIAS PARA IMUNIDADE PROTETORA NA ESQUISTOSSOMOSE

Grande parte do conhecimento indicando que existe resistência a infecção e reinfecção por *Schistosoma* derivou de estudos em animais experimentais cuja resistência à reinfecção pode ser induzida mediante exposição a cercárias, com o desenvolvimento subseqüente de uma infecção patente (modelo de infecção), ou por exposição a cercárias que passaram por irradiação (modelo de vacina por cercárias irradiadas). Neste modelo, o esquistossômulo oriundo da cercária irradiada imunizante morre em vários pontos de sua trajetória migratória, antes que a maturidade parasitária seja atingida no sistema porto-mesentérico (Coulson, 1997).

A resistência imune que se segue à exposição a cercárias normais se desenvolve coincidentemente ao período de oviposição e atinge o seu ápice entre quatro e seis semanas depois (Smithers & Terry, 1967; Dean, 1983). O termo 'imunidade concomitante' foi utilizado para descrever esta situação na qual a resistência parcial à reinfecção ocorre na presença de uma infecção ativa (Smithers & Terry, 1969). A transferência intra-hepática de vermes adultos de *Schistosoma* para macacos *Rhesus* mostrou que a imunidade protetora neste modelo pode ser induzida pela presença do verme adulto sem exposição prévia a cercárias ou esquistossômulos (Smithers & Terry, 1967). Contudo, a resistência é dirigida contra a larva em migração da infecção-desafio, ao passo que os vermes adultos da primeira infecção sobrevivem ao ataque imune.

Diferentemente, na exposição a cercárias irradiadas, a resposta imunoprotetora se desenvolve rapidamente, atinge o seu máximo na quinta semana e permanece alta por longos períodos de tempo (Dean, 1983). A proteção conferida por este tipo de vacinação pode chegar a 70%-80 %, tendo sido considerada um referencial para o desenvolvimento de vacinas contra a esquistossomose. Em camundongos, uma exposição única produz uma resposta tipo Th1, e após exposições múltiplas o componente protetor dependente de anticorpos torna-se predominante (Coulson, 1997). Claramente, este tipo de imunidade não está associada com a fase adulta do parasito, nem com a patologia induzida pelo ovo, mas é induzida pelos esquistossômulos danificados pela radiação durante a sua migração e amadurecimento alterados. Da mesma forma que na imunidade concomitante, são as larvas em migração ou formas parasitárias imaturas da infecção de desafio que são alvos da imunidade. A imunidade concomitante não é espécie-específica (Smithers & Doenhoff, 1982), mas a proteção induzida por cercárias irradiadas é (Bickle et al., 1985), levando alguns autores a acreditarem que, além de mecanismos imunes específicos, fatores não imunológicos, envolvendo alterações na vasculatura hepática, possam ter alguma importância na imunidade concomitante (Wilson, Coulson & McHugh, 1983).

Na esquistossomose humana, existem evidências de que se possa adquirir resistência contra a reinfecção (Butterworth & Hagan, 1987; Hagan, 1992; Hagan & Abath, 1992; Hagan et al., 1991; Butterworth et al., 1996). A observação de uma redução da intensidade de infecção em pessoas com mais idade em populações não tratadas é uma evidência circunstancial. Um possível fator de confundimento é que o grau de exposição à infecção pode ser mais baixo nos grupos de idade mais avançada. Esta controvérsia foi resolvida por estudos de reinfecção que mostraram que as crianças eram mais suscetíveis a reinfecção após o tratamento, enquanto os adultos eram relativamente resistentes, apesar de registrarem níveis equiparados de exposição ao parasito infectante (Wilkins et al., 1987). Portanto, um nível significante de imunidade protetora contra *Schistosoma* parece se desenvolver em indivíduos mais velhos, nas áreas endêmicas, como resultado de exposições repetidas. Foi demonstrado que altos níveis de anticorpos IgE

antiparasitários estavam associados com a resistência à infecção (Hagan et al., 1991; Dunne et al., 1992; Rihet et al., 1991). Além disso, os eosinófilos são importantes como efetores da citotoxicidade mediada por células e dependentes de anticorpos (Dunne et al., 1992).

Apesar de os mecanismos de imunidade protetora contra *Schistosoma* terem sido examinados em vários modelos animais, assim como em estudos populacionais de base epidemiológica, estas investigações não foram suficientes para orientar sem ambigüidades e de maneira consistente o desenvolvimento de vacinas. Ainda persistem dúvidas sobre o tipo protetor de resposta imune na esquistossomose. Os resultados dos estudos em ratos e seres humanos sugerem que uma vacina deveria explorar os mecanismos efetores tipo Th2, enquanto os estudos de vacinação em camundongos indicam que a imunidade celular, envolvendo produção de IFN-γ e IL-12, seria benéfica. Apesar deste aparente conflito, evidências recentes parecem indicar que a produção de uma resposta imune mista do tipo Th1-Th2 (celular-humoral) pode ser a mais apropriada para uma estratégia de vacinação (Wynn & Hoffmann, 2000). Portanto, a identificação de antígenos que estimulam resposta Th-1 e Th-2 é relevante. Um outro fator complicador é que a maioria dos estudos de vacinação foram feitos com animais experimentais, não havendo garantias de que as respostas protetoras encontradas sejam equivalentes às que se obteriam com o ser humano (Katz, 1999a).

Estratégias para a Identificação de Antígenos Potencialmente Vacinais

Algumas observações sugerem que mesmo uma preparação vacinal que confira proteção parcial pode ser de relevância biológica e clínica para o controle da doença esquistossomótica (Capron et al., 1987; Mahmoud, 1989):

- os esquistossomos não se multiplicam dentro do hospedeiro definitivo;
- uma proporção pequena de indivíduos infectados possui carga parasitária muito elevada;
- a morbidade relaciona-se, dentre outros fatores, com a carga parasitária. A indução de proteção parcial em indivíduos susceptíveis reduziria a probabilidade de desenvolvimento de doença severa e também diminuiria a contaminação do ambiente, talvez reduzindo a transmissão para indivíduos não infectados (Dunne, Hagan & Abath, 1995).

Como mencionado anteriormente, cercárias irradiadas foram utilizadas com sucesso na indução de resistência em animais em experimento (Taylor & Bickle, 1986; Yole et al., 1996). As limitações da vacina com cercárias atenuadas por irradiação se relacionam com a dificuldade de produção e manutenção das mesmas para uso em larga escala. Mais que isto, a multiplicidade de antígenos contida nestas preparações irradiadas também é preocupante, pois nem todos os antígenos podem estar estimulando uma resposta imune protetora, havendo o risco de conseqüências imunopatológicas ou imunossupressoras não desejáveis (Mahmoud, 1989). Portanto, é essencial identificar os antígenos relevantes do parasito que possam constituir uma vacina definida e segura. Camundongos vacinados com cercárias irradiadas apresentam resposta imune celular e humoral a vários antígenos, incluindo paramiosina, HSP70 (uma proteína de choque térmico – *heat shock protein*), a proteína de membrana Sm23, glutationa-S-transferase e triose-fosfato-isomerase (Richter, Reynoldss & Harn, 1993).

Várias estratégias foram utilizadas para a identificação de imunógenos para vacinas contra a esquistossomose (Sher et al., 1989). Uma das abordagens utiliza a produção de anticorpos monoclonais

contra fases do ciclo de vida do parasito que podem estar envolvidas no estímulo de respostas imunes protetoras ou representam alvos da imunidade protetora. Os anticorpos monoclonais capazes de transferir passivamente níveis altos de resistência a reinfecção são usados para identificar epitopos relevantes. Esta abordagem levou à identificação de GP32, GP38 (Capron et al., 1987) e da triose-fosfato-isomerase (Harn et al., 1992). A identificação de antígenos reconhecidos exclusivamente por hospedeiros experimentais resistentes revelou a importância dos antígenos GP22/Sm25 (El-Sherbeini et al., 1991; Knight et al., 1989; Omer-Ali et al., 1991). Anticorpos produzidos contra antígenos exclusivamente reconhecidos por soros de camundongos vacinados com cercárias irradiadas também foram usados em procedimentos de seleção que conduziram à identificação de um antígeno de 200 kDa (miosina) (Soisson et al., 1992; Richter, Incani & Harn, 1996). Embora os homogenatos parasitários ou frações parasitárias (por exemplo, frações solúveis, preparações de membranas do tegumento) sejam bem menos potentes que as vacinas de cercárias irradiadas na indução de imunidade protetora, eles permitiram a indução de anticorpos em animais parcialmente protegidos, que resultou na identificação de candidatos a imunógenos tais como paramiosina (37), Sm25 (34) e Sm14 (38).

Os estudos populacionais de resistência à infecção também foram úteis na identificação de candidatos potenciais a vacina. A resistência humana a *Schistosoma mansoni* foi associada com a reatividade aumentada de anticorpos contra determinados antígenos da superfície do esquistossômulo. O estudo comparativo do padrão de reatividade do soro de indivíduos com alta e baixa susceptibilidade à infecção indicou que a reatividade de anticorpos IgG contra um antígeno de 37 kDa (gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase – Gapdh) pode estar associada com resistência (Dessein et al., 1988; Argiro et al., 2000). Uma outra abordagem alternativa foi a identificação, nos vários estágios do ciclo de vida do parasito, de componentes cuja função seja essencial para a sobrevivência, como é o caso da elastase cercariana (McKerrow & Doenhoff, 1988).

Todas estas abordagens têm vantagens e desvantagens, mas se mostraram úteis nas etapas iniciais para a identificação de antígenos relevantes. Como resultado, vários antígenos de *Schistosoma* foram gerados em diversas formas, incluindo preparações com proteínas nativas e produtos obtidos por várias abordagens de engenharia genética e testados para avaliação de imunogenicidade, proteção e toxicidade. Além disso, informações detalhadas sobre as seqüências dos genes que codificam aquelas proteínas permitiram o mapeamento e síntese dos epitopos relevantes para estudos da resposta imune de células T e B.

É possível que os antígenos expressos em vários estágios parasitários sejam mais apropriados que os antígenos estágio-específicos para induzir os mecanismos efetores responsáveis pela imunidade (Capron et al., 1987). As moléculas usadas em vacinação devem estimular imunidade protetora sem produzir colateralmente anticorpos bloqueadores ou resposta imune potencialmente envolvida com a formação de granulomas e fibrogênese (Bergquist, 1990).

Com o avanço das tecnologias genômicas e proteômicas, novas estratégias se tornaram disponíveis para a identificação de genes/antígenos potencialmente relevantes para a imunidade protetora contra a esquistossomose. Os candidatos potenciais a vacina supostamente incluem proteínas que estão expostas na superfície ou são excretadas, e que são expressas nos estágios parasitários presentes no hospedeiro humano. Estas propriedades foram exploradas, no sentido de se identificar proteínas que pudessem ser categorizadas como toxinas, receptores de adesão de superfície, proteínas de membrana superficiais,

receptores para fatores do hospedeiro e enzimas expostas na superfície mediante categorização por ontologia genética (Verjovski-Almeida et al., 2003).

ANTÍGENOS CANDIDATOS A VACINA

Será abordada, neste capítulo, a caracterização molecular, bioquímica e imunológica dos antígenos que foram considerados, pela OMS, como os mais promissores para o desenvolvimento de uma vacina: GST (glutationa-S-transferase); Sm14 (proteína ligante de ácidos graxos); paramiosina; TPI (triose-fosfato-isomerase); Sm23 e miosina (IrV5) (Quadro 1). Contudo, certamente existem vários outros antígenos igualmente promissores, que merecem ser mais bem avaliados visando ao desenvolvimento de uma vacina (Pearce, 2003). É interessante notar que muitos dos antígenos que continuam sendo testados presentemente como possíveis vacinas contra a esquistossomose foram identificados há mais de uma década, enquanto relativamente poucos novos antígenos foram experimentalmente propostos como candidatos vacinais nos últimos anos (Argiro et al., 2000; Webster et al., 1998; Petzke et al., 2000; Mohamed et al., 1998; Cook et al., 2004). Muitos dos antígenos potencialmente protetores identificados em *S. mansoni* correspondem a proteínas homólogas em *S. japonicum* e *S. haematobium*, que no entanto não receberão muita atenção neste capítulo, que se concentrará primariamente em *S. mansoni*.

A maior parte das preparações vacinais propostas para a esquistossomose consistiram em antígenos nativos purificados, antígenos recombinantes, construções moleculares com peptídeos sintéticos e, nos últimos anos, vacinas de DNA. Vários pesquisadores obtiveram êxito em induzir resposta imune antígeno-específica com vacinas de DNA (Yang et al., 2001; Waine et al., 1997; Zhang et al., 2000), apesar de poucas publicações terem relatado sucesso na imunidade protetora (Mohamed et al., 1998; Da'dara et al., 2001; Zhang et al., 2001), talvez indicando que esta abordagem não produza a resposta imune adequada para a proteção contra a esquistossomose. Sabidamente, indução de resposta imune não implica, necessariamente, imunidade protetora.

Quadro 1 – Fases de desenvolvimento de alguns candidatos a vacina prioritários

Antígeno	Descrição	Fase de desenvolvimento
Sm28-GST	glutationa-S-transferase, presente em esquistossômulos, vermes adultos e ovos	Fase I/II, clínica
IrV-5	Um segmento da miosina, proteína muscular expressa em esquistossômulos, vermes adultos e ovos	Fase 0, pré-clínica
TPI	triose-fosfato-isomerase, presente em todos os estágios do parasito	Fase 0, pré-clínica
Paramiosina	Proteína muscular presente em esquistossômulos e vermes adultos	Fase 0, pré-clínica
Sm14	Proteína ligante de ácidos graxos expressa em esquistossômulos e vermes adultos	Fase 0, pré-clínica
Sm23	Proteína integral de membrana provavelmente envolvida na sinalização celular; presente em esquistossômulos, vermes adultos e ovos	Fase 0, pré-clínica

Sm28 (glutationa-S-transferase)

O antígeno protetor de 28 kDa de *S. mansoni* (Sm28-GST) pode ser detectado principalmente no parênquima do esquistossômulo e do verme adulto, e também nas estruturas espiculadas do tegumento (Balloul et al., 1987a). Este é o antígeno de *Schistosoma* mais bem caracterizado do ponto de vista bioquímico e imunológico. Soros de ratos vacinados com Sm28-GST foram capazes de transferir proteção a hospedeiros virgens de infecção, indicando a contribuição de um mecanismo humoral. A presença da proteína Sm28-GST também foi demonstrada em extratos de espécies relacionadas, tais como *S. bovis*, *S. haematobium* e *S. japonicum*, sugerindo que uma vacina efetiva tanto contra a esquistossomose bovina como para a esquistossomose humana poderia ser elaborada. Subseqüentemente, o gene codificando Sm28 foi clonado, seqüenciado e expresso em *Escherichia coli* (Balloul et al., 1987b). Imunizações tanto com o antígeno nativo purificado ou com a proteína recombinante induziram proteção contra infecção por *S. mansoni* em vários animais em experimento (Balloul et al., 1987a), incluindo ratos (50% a 70% de redução da carga parasitária), camundongos (39% a 43%) e *hamsters* (52%). Além disso, foram induzidos altos níveis de citotoxicidade sérica contra o esquistossômulo. A resposta imune após a administração de Sm28-GST era composta principalmente por anticorpos das classes IgE e IgG, sendo IgE o principal isotipo responsável pela citotoxicidade dependente de eosinófilos. No modelo murino, os anticorpos anti-Sm28 não estavam envolvidos nos mecanismos protetores (Wolowczuk et al., 1989). Em contraste, linhagens celulares do tipo Th específicas para Sm28 podiam transferir de maneira adotiva altos níveis de proteção. Os principais epitopos destes antígenos foram identificados, destacando-se o peptídeo 115-131, que contém sítios de reconhecimento para células T e B (Wolowczuk et al., 1991). A propósito, foi demonstrado que uma construção octamérica do peptídeo 115-131 de Sm28 possuía imunogenicidade protetora em ratos, camundongos e babuínos. O fato de Sm28 não ser uma proteína integral de membrana, mas uma glutationa-S-transferase (GST) excretada pelo parasito e expressa transitoriamente na superfície do esquistossômulo, aponta para o papel essencial que podem ter os antígenos excretórios e secretórios na indução de imunidade (Capron et al., 1987). Foi demonstrado que a imunização com Sm28 afeta a viabilidade do parasito e sua fecundidade no hospedeiro babuíno e implica a diminuição da eclosão dos ovos de *S. mansoni* eliminados por camundongos (Boulanger et al., 1991). Portanto, a proteção conferida pela imunização com Sm28 parece ser ativa em três níveis:

- na carga parasitária;
- na fecundidade do parasito;
- na capacidade de eclosão dos ovos.

Estes dois últimos aspectos da imunidade podem se relacionar com o reconhecimento das extremidades carboxi-terminais e amino-terminais da molécula, inibindo a atividade enzimática da GST (Xu et al., 1993). Muitos destes efeitos são compartilhados por ShGST, antígeno homólogo encontrado em *S. haematobium*. Um programa de pesquisa bastante abrangente do Instituto Pasteur conduziu à produção de GST com qualidade apropriada para uso pela própria instituição. Em decorrência disso, a GST de *S. haematobium* foi utilizada em ensaios clínicos de Fase I e está sendo avaliada atualmente em ensaios clínicos de Fase II no Senegal (Capron et al., 2001). Até o presente os resultados obtidos não foram publicados. Lebens et al. (2003) construíram uma proteína de fusão contendo epitopos de Sm28-GST (aa

24-43 e 191-212) dominantes para linfócitos B e T, geneticamente ligados à subunidade B da toxina da cólera, visando à administração da vacina através de mucosas em camundongos infectados com *S. mansoni*. O resultado desta abordagem foi promissor, haja vista que a preparação suprimiu a imunopatologia hepática dependente de ovos, além do que diminuiu a carga de vermes adultos e a produção de ovos. Estes efeitos estavam associados com a supressão da resposta imune celular e com a produção específica de anticorpos, incluindo IgG, IgA e IgE.

Sm97 (paramiosina)

A paramiosina (Sm97) foi identificada após experimentos de imunização intradérmica de camundongos com extratos de *Schistosoma* em combinação com o adjuvante bacteriano *Bacille Calmette Guerin* de *Mycobacterium bovis* (BCG), que resultaram em indução de imunidade celular antígeno-específica. Os camundongos que foram imunizados por esta via foram protegidos, enquanto aqueles imunizados por via intravenosa ou intramuscular, que preferencialmente induziam a produção de anticorpos, não se tornaram imunes (James, Pearce & Sher, 1987). Além disso, frações solúveis do verme livres de membranas também induziam proteção quando administradas por via intradérmica, mas muitas vezes não estimulavam níveis significantes de anticorpos contra a superfície do esquistossômulo. Apesar de a ativação macrófago-dependente de células T ser o provável mecanismo efetor da proteção observada, a resposta humoral também foi avaliada, observando-se que os soros dos camundongos vacinados com frações antigênicas complexas de *Schistosoma* reconheciam um único polipeptídeo de 97 kDa (Sm97) (Pearce et al., 1986). Com a caracterização molecular do gene correspondente descobriu-se que a proteína parasitária reconhecida pelos soros dos animais vacinados era a paramiosina, uma proteína miofibrilar presente exclusivamente em invertebrados (Lanar et al., 1986). Esta molécula está presente no músculo e nos corpos discóides do tegumento (Matsumoto et al., 1988), mas não está presente na superfície do parasito (Pearce et al., 1986). A paramiosina purificada ou recombinante administrada por via intradérmica com BCG em camundongos induz níveis de proteção equivalentes àqueles induzidos por extratos não fracionados do parasito (26%-39% de resistência a infecções-desafio). Esta imunidade é caracterizada por uma resposta imune específica para antígenos parasitários, com a participação de células T com produção de IFN-γ e altos níveis de anticorpos (Pearce et al., 1988). Além disso, a paramiosina purificada foi capaz de conferir proteção significante mesmo quando administrada sem adjuvante (Flanigan et al., 1989). Não se sabe claramente como a paramiosina, que é uma proteína não exposta na superfície, age como alvo da resposta imune dependente de células T, mas foi proposto que os parasitos da infecção-desafio liberariam a paramiosina como um antígeno excretório/secretório, estimulando uma reação inflamatória mediada por células localizadas, que resultaria no encarceramento ou destruição do parasito pelos macrófagos ativados (James, Pearce & Sher, 1987). Além de sua importância imunológica como candidato a vacina, a paramiosina desperta interesse por causa de sua provável função fisiológica para o parasito (Lanar et al., 1986). Como se verá adiante, a paramiosina foi uma das moléculas que recebeu apoio do Programa de Doenças Tropicais da Organização Mundial da Saúde para produção de acordo com boas práticas laboratoriais (*good manufacturing practice* – GMP), mas nada de novo foi publicado sobre este candidato a vacina nos últimos anos, no contexto de uma vacina contra *S. mansoni*. A paramiosina também se mostrou protetora contra infecções por *S. japonicum* (Nara et al., 1997).

Triose-fosfato-isomerase (TPI)

Objetivando a identificação de antígenos candidatos para uma vacina contra a esquistossomose, anticorpos monoclonais foram preparados em camundongos que haviam sido imunizados com preparações antigênicas obtidas mediante tratamento de esquistossômulos transformados mecanicamente (Harn et al., 1992). Um destes anticorpos monoclonais (mAb M1) se ligava transitoriamente à superfície de esquistossômulos recém-transformados e imunoprecipitava um antígeno de 28 kDa de todas os estágios do parasito. Por meio de imunofluorescência indireta foi demonstrado que este antígeno estava presente em todas as células do verme adulto, inclusive no tegumento. Os anticorpos mAb M1 eram capazes de transferir, passivamente, altos níveis de resistência (41%-49%) contra desafios cercarianos, sugerindo que o antígeno de 28 kDa reconhecido pelo mAb M1 fosse um antígeno potencialmente relevante para o desenvolvimento de uma vacina definida. Também foi demonstrado que esta proteína funciona cataliticamente como uma triose-fosfato-isomerase (TPI), uma enzima glicolítica/gliconeogênica cuja atividade é alterada pelo anticorpo monoclonal. Portanto, TPI também pode ser alvo de ataque farmacológico. O anticorpo mAb M1 não se liga a TPI de coelho, cão ou levedura em experimentos de *Western blot*, indicando que pelo menos alguns dos epitopos da enzima não são conservados na enzima homóloga do hospedeiro. O cDNA para TPI foi clonado e expresso em *E. coli* (Shoemaker et al., 1992), e os epitopos específicos para células T e B das regiões não conservadas da TPI foram determinados. Com base nestes estudos, uma estrutura bastante imunogênica foi construída, composta por quatro braços antigênicos de peptídeos sintéticos múltiplos originando-se em um núcleo de ramificação de lisina (Harn et al., 1995a, 1995b; Reynolds, Dahl & Harn, 1994). Estes construídos sintéticos, denominados MAP-4, se mostraram altamente protetores para camundongos C57Bl/6J, reduzindo a carga parasitária para 38%-82%, quando alume era usado como adjuvante e para 52%-75%, quando lipossomos eram usados como o sistema de apresentação antigênico (Reynolds, Dahl & Harn, 1994). O efeito protetor observado podia ser aumentado com adição de IL-12. A triose-fosfato-isomerase também foi uma proteína estimulada para produção em condições apropriadas para uso clínico, embora novos resultados não tenham sido publicados.

Sm23

Os estudos para o desenvolvimento de uma vacina utilizando Sm23 foram empreendidos pelo mesmo grupo que investigou a TPI. Sm23 é uma proteína integral de membrana de *S. mansoni*, identificada como alvo de um anticorpo monoclonal protetor (Harn et al., 1985). É expressa em todos os estágios de desenvolvimento no hospedeiro vertebrado. Após a clonagem do gene, e identificação dos epitopos relevantes, peptídeos múltiplos antigênicos derivados de Sm23 foram construídos (MAP-3) e se mostraram protetores (Harn et al., 1995a). Sm23 é membro de uma família de proteínas que estão envolvidas nas vias de sinalização celular. Apesar de compartilharem alguns domínios com proteínas humanas, há pouca homologia no nível de seqüência primária. Além disso, foi demonstrado que a vacinação (estímulo e reforço) com Sm23 na forma de vacina de DNA plasmidial conferia proteção parcial a camundongos (36%-44%), produzindo uma resposta imune do tipo Th1. Entretanto, quando a dose de reforço era feita com Sm23 recombinante, não havia redução significativa na quantidade de vermes, e a resposta imune desviava-se para o tipo Th2, sugerindo que esta resposta ao imunógeno Sm23 não era protetora (Da'Dara et al., 2003).

Miosina (antígeno de 200 kDa)

Alguns antígenos da superfície do esquistossômulo são reconhecidos exclusivamente por soros de camundongos vacinados com cercárias atenuadas por irradiação, podendo representar possíveis candidatos para imunoprofilaxia. Anticorpos policlonais foram produzidos contra estes antígenos e usados para isolar um cDNA, denominado rIrV-5, a partir de uma biblioteca de cDNA do verme adulto de *S. mansoni* (Soisson et al., 1992). O cDNA completo para a miosina foi clonado e seqüenciado (Weston et al., 1993), observando-se que a seqüência derivada de aminoácidos apresenta homologia com a cadeia pesada da miosina de seres humanos e muitas outras espécies. Este cDNA foi subclonado em um vetor de expressão, e a proteína recombinante (rIrV-5) foi utilizada para vacinar camundongos na forma de complexos de proteína ou proteossomos compostos pela proteína recombinante e proteínas da membrana externa do meningococo. O nível de proteção variou de 60% a 80% em camundongos (Soisson et al., 1992) e 94% a 97% em ratos (Soisson & Strand, 1993). A vacinação de babuínos produziu um nível de proteção que variou de 0%-54%. A análise dos soros individuais dos babuínos demonstrou uma correlação direta entre os títulos de anticorpos anti-rIrV e resistência contra infecções desafiadoras, sugerindo que o mecanismo de imunoproteção é anticorpo-dependente (Soisson et al., 1993). Análises imunoquímicas utilizando anticorpos monoclonais e soros de camundongos vacinados com rIrV-5 demonstraram que a proteína nativa possuía 200 kDa, sendo expressa na superfície do esquitossômulo recentemente transformado e no tegumento de vermes adultos (Soisson et al., 1992). Entretanto, a proteína homóloga de *S. japonicum* utilizada em vacinação não é capaz de estimular uma resistência imune significativa. Experimentos recentes tiveram sucesso no que se refere à produção de anticorpos específicos mas não resultaram em proteção (Zhang et al., 2000).

Proteína Ligante de Ácido Graxo (Sm14)

A vacinação protetora de camundongos *outbred* tipo Swiss e coelhos, com um extrato salino solúvel do verme adulto de *S. mansoni*, resulta respectivamente em 50% e 90% de proteção. Um dos componentes protetores foi identificado por clonagem e seqüenciamento e denominado Sm14, uma proteína ligante de ácidos graxos (Moser et al., 1991). Em experimentos de vacinação de camundongos, Sm14 recombinante conferiu imunidade protetora de 67% contra infecções desafiadoras de cercárias, mesmo na ausência de adjuvante. Este mesma preparação antigênica era também capaz de conferir forte proteção a camundongos contra infecções com metacercárias de *Fasciola hepatica*, sugerindo a possibilidade da produção de uma única vacina com eficácia contra estes dois parasitos: *F. hepatica* (de interesse em medicina veterinária) e *S. mansoni* (de interesse em medicina humana) (Tendler et al., 1996). Recentemente, várias formas de apresentação de Sm14 ao sistema imune foram desenvolvidas e testadas experimentalmente. Em um destes estudos, uma fusão de Sm14 com a β-lactamase foi expressa no bacilo de Calmette-Guérin (BCG), predominantemente na parede celular da bactéria. A imunização com esta BCG recombinante resultou em uma resposta imune do tipo Th1 e proteção de 48%, mesmo quando a preparação era administrada em uma única dose (Varaldo et al., 2004). Em um outro estudo, camundongos foram imunizados com Sm14 fusionada com o fragmento C da toxina tetânica, resultando na produção de anticorpos contra Sm14 e redução de 50% na carga parasitária, após o desafio com cercárias de *S. mansoni* (Abreu et al., 2004). Embora os estudos discutidos anteriormente sugiram que tanto as respostas imunes Th1 e Th2 contra

Sm14 sejam importantes para a imunidade protetora, os mecanismos subjacentes não estão ainda bem definidos. Sm14 foi testada como uma vacina veterinária contra *F. hepatica* em um grande número de ovelhas, mas não apresentou resultados satisfatórios de proteção.

Uma série de reuniões, patrocinadas pela United States Agency for International Development, pelo ministério da saúde do governo do Egito e pelo Programa de Doenças Tropicais da Organização Mundial da Saúde, foram realizadas para avaliar os resultados dos experimentos de proteção em camundongos isogênicos e dos estudos de correlação em seres humanos que, apesar de residirem em áreas endêmicas de alta transmissão, apresentavam graus variados de infecção (WHO, 1997). Os estudos em camundongos foram desapontadores (a indução consistente de uma proteção de no mínimo 40% não foi atingida). Os resultados para correlacionar a carga parasitária (excreção de ovos nas fezes) e a resposta imune aos candidatos a vacina em seres humanos mostraram que havia uma correlação inversa entre a produção de IFN-γ em resposta a paramiosina e IrV5 e níveis de infecção (Ribeiro de Jesus et al., 2000). Além disso, havia uma correlação inversa entre os níveis de produção de IL-5 em resposta a MAP-3 (derivado de Sm23) e MAP-4 (derivado de TPI) e carga parasitária. Estes resultados sugeriam que diferentes antígenos induzem tipos diferentes de resposta imune protetora. No caso de paramiosina e IrV5 a imunidade protetora seria dependente de IFN-γ, enquanto no caso de MAP-3 e MAP-4, seria dependente de IL-5. Estes resultados foram subseqüentemente complementados e ampliados por um outro grupo, que, além de estudarem a resposta imune de pacientes resistentes e suscetíveis frente a MAP-3, MAP-4, IrV5 e paramiosina, incluíram nos testes Sm28-GST, Sm14 e outros antígenos promissores (Al-Sherbiny et al., 2003). A conclusão principal destes estudos foi que cada candidato a vacina não induzia apenas respostas imunes que se correlacionavam com resistência, pois também havia correlações negativas da resposta imune com o estado de resistência resultante (Quadro 2).

As reuniões antes mencionadas consideraram alguns candidatos a vacina como prioritários e estimularam que os mesmos avançassem para os ensaios em Fase I (WHO, 1997). Embora os resultados experimentais com os antígenos mais promissores não tivessem sido confirmados por dois laboratórios independentes e os resultados das citocinas *in vitro*, após estímulo com antígenos vacinantes, também não fossem conclusivos, foram iniciados os ensaios clínicos em Fase I e ensaios de Fase II – estes últimos especificamente em áreas endêmicas da África – com a GST de *S. haematobium* (Capron et al., 2001; Capron, 1998). Os resultados obtidos nos ensaios clínicos ainda não foram divulgados. Por outro lado, outros antígenos estão sendo produzidos de acordo com boas práticas de laboratório, como já mencionado.

Quadro 2 – Correlações entre o tipo de resposta imune a alguns candidatos a vacina e o estado de resistência à infecção

Antígeno	Correlação positiva com resistência	Correlação negativa com resistência
MAP3 (Sm23)	IgG3	IgG4
MAP4 (TPI)	IgG2	IgG1, IL-5
Paramiosina	IL-2, IL-5	IgG1, IgG4, IGA, IL-10
IrV5 (miosina)	IgE	-
Sm28-GST	IGA	-
Sm14	IgG2, IgE, IgA, IFN-γ	IgG3

Fonte: adaptado de Al-Sherbiny et al. (2003).

POTENCIAIS PROBLEMAS E PERSPECTIVAS FUTURAS

A expectativa de fabricação de uma vacina contra a esquistossomose existe há muitos anos. Porém, não seria prudente se fazer previsões exageradamente otimistas sobre os avanços futuros. Apesar do progresso feito recentemente na identificação e expressão de antígenos, a construção de uma vacina eficiente ainda não é tarefa fácil. A esquistossomose é uma das doenças mais complexas com a qual a imunoprofilaxia está se debatendo (Dunne, Hagan & Abath, 1995). A este respeito, existem pesquisadores que questionam se existem evidências de que seja possível desenvolver uma vacina eficiente contra a esquistossomose, opinando que um pré-requisito para a realização de ensaios clínicos seria um entendimento mais profundo e consistente sobre a imunidade protetora na esquistossomose humana (Katz, 1999a; Gryseels, 2000). Uma vacina contra a esquistossomose enfrentará todos os problemas inerentes à aplicação de qualquer vacina em áreas endêmicas. Em muitos países em que a esquistossomose é endêmica, os programas de distribuição de vacinas não são bons, pois mesmos aquelas vacinas com comprovada atividade não têm sido utilizadas em larga escala.

Várias etapas de testes têm que ser percorridas antes que uma vacina possa ser utilizada amplamente. As diretrizes para o desenvolvimento de vacinas usualmente têm sido descritas na forma de fases que têm que ser rigorosamente seguidas (Quadro 3). O início do processo diz respeito a todos os experimentos pré-clínicos (Fase 0), incluindo os estudos em animais em experimentação, utilizados para a coleta de informações preliminares sobre o potencial vacinal do produto (imunogenicidade, imunidade protetora e toxicidade). Se os resultados forem adequados então se avança para as fases de ensaios clínicos II, III, IV. Questões éticas importantes, associadas à seleção dos grupos-controles apropriados, acompanharão todas as etapas de avaliação. Haja vista que este tipo de ensaio clínico provavelmente se estenderá por muitos anos, não seria aceitável monitorar o progresso da infecção em indivíduos não vacinados e sem qualquer tipo de tratamento. O mesmo se aplicaria aos indivíduos vacinados nos quais a vacinação tiver um efeito limitado. Talvez a única maneira de avaliar os benefícios a longo prazo seja mediante comparação com outras áreas previamente não investigadas, onde uma vacina não tenha sido usada, ou por meio de controles históricos, mas nenhuma destas alternativas levaria em conta as variações nos níveis de transmissão da infecção. Em um ensaio clínico de avaliação de uma vacina contra a esquistossomose, a monitoração dos parasitos é essencial, mas se reveste de dificuldades.

Quadro 3 – Diretrizes para a avaliação de vacinas

Fase avaliativa	Objetivos
Fase 0	Avaliação pré-clínica de candidatos a vacinas no laboratório (toxicidade, imunogenicidade e proteção, incluindo técnicas *in vitro* e *in vivo* em animais usados experimentalmente).
Fase I	Vacinação de pequeno número de voluntários não imunes (p.ex., vinte) para avaliar a segurança e níveis de resposta imune.
Fase II	Avaliação da imunogenicidade e dos níveis de proteção em um número maior de indivíduos.
Fase III	Ensaios clínicos de campo para avaliar a proteção induzida pela vacina contra a infecção natural em áreas de estudo bem caracterizadas, incluindo áreas onde a imunidade é adquirida naturalmente.
Fase IV	Avaliação de campo em larga escala de vacinas licenciadas: monitoramento da resposta imune, proteção, patologia e transmissão.

Fonte: baseado nas diretrizes para avaliação de vacinas da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2003).

Usualmente, a quantidade de vermes é estimada indiretamente a partir do número de ovos nas fezes, com óbvias limitações e falta de sensibilidade. Uma alternativa seria a utilização dos métodos diagnósticos baseados na detecção de antígenos circulantes dos vermes adultos, que, no entanto, também não são muito sensíveis (Bergquist et al., 2002).

A vacinação como estratégia para o controle de doenças e como parte de um programa de controle teria muitas vantagens, em comparação com a quimioterapia ou a prevenção da transmissão, pois o tratamento com drogas geralmente é difícil ou dispendioso, tendo que ser repetido várias vezes, além do que não é fácil modificar as condições sanitárias e socioeconômicas (fatores contribuintes para a transmissão das doenças parasitárias), seja por causa do alto investimento necessário inicialmente, seja por falta de vontade ou consciência política. A esperança de se ter uma vacina contra a esquistossomose permanece bastante motivadora para o desenvolvimento de pesquisas relacionadas à doença. Contudo, o fornecimento de água potável e condições sanitárias adequadas com melhora das condições em que as pessoas de áreas endêmicas residem devem permanecer prioritários. Seria um erro presumir que uma única medida de controle fosse eficaz em todas as situações.

O delineamento das características de uma vacina ideal pode servir de referencial para os esforços de desenvolvimento de uma vacina contra a esquistossomose. Seriam as seguintes as características de uma vacina ideal (Katz, 1999b):

- poder ser administrada por via oral e em dose única;
- ter baixo custo;
- conferir imunidade de longa duração;
- poder ser administrada juntamente com outras vacinas no contexto do Programa Nacional de Imunizações;
- estimular imunidade protetora sem conduzir a efeitos imunopatológicos desfavoráveis ou conseqüências imunossupressoras.

No entanto, mesmo a obtenção de uma vacina que se afaste um pouco das características delineadas pode ser útil no contexto de um programa articulado de controle da esquistossomose.

Vários pesquisadores apontam para a necessidade de mais pesquisas sobre vacinas contra a esquistossomose, considerando essencial a consolidação do conhecimento, de forma que se tenha uma idéia clara do que poderia ser esperado de uma vacina contra a esquistossomose e qual a melhor forma de monitorar seus efeitos (Katz, 1999a; Gryseels, 2000; Hagan, Ndhlovu & Dunne, 1998). De fato, o desenvolvimento bem-sucedido de uma vacina eficaz contra a esquistossomose talvez dependa de entendimento mais claro dos componentes protetores da resposta imune deflagrada pela infecção e da identificação dos antígenos responsáveis pela resposta protetora. O que se nota é que o progresso na identificação e produção de antígenos potencialmente protetores encontra-se em descompasso com o conhecimento ainda incompleto e fragmentário dos mecanismos imunes ou indicadores imunológicos de uma resposta imune protetora contra a esquistossomose humana.

Os genes que influenciam a resposta imune variam na espécie humana. Da mesma forma, existe alguma variabilidade genética e antigênica na população parasitária. Possivelmente, as abordagens contemplando múltiplos epitopos ou genes poderão contornar a restrição genética da resposta imune do hospedeiro e a variabilidade antigênica. Contudo, estas abordagens ainda não se mostraram produtivas

(Yang et al., 2001). Presentemente, não há nenhuma vacina contra doenças parasitárias humanas com aceitação geral, apesar de haver evidências para resistência imune adquirida contra reinfecção em quase todas as doenças parasitárias (Abath, Montenegro & Gomes, 1998; Abath, 2000). Contudo, diferentemente da maioria das infecções virais e bacterianas, os parasitos causam infecções crônicas e persistentes, usualmente associadas com lesões imunopatológicas e imunidade parcialmente protetora. Apesar de uma imunidade protetora parcial poder resultar em efeitos benéficos sobre a transmissão e risco de desenvolvimento das formas graves da esquistossomose, devido a questões metodológicas e éticas isto será difícil de demonstrar (Abath, 2000). Talvez a estimulação do sistema imune por mecanismos diferentes daqueles deflagrados pela infecção natural possa resultar em proteção mais completa, e conseqüentemente mais eficaz. Com este objetivo, vários pesquisadores examinaram as possibilidades da imunomanipulação, isoladamente ou em combinação com a quimioterapia e vacinação (Kaye et al., 1995). A capacidade da vacina para conferir imunidade protetora contra as doenças parasitárias pode ser melhorada com a administração de citocinas apropriadas, que podem regular a resposta imune de maneira a favorecer o hospedeiro (Wynn et al., 1995a, 1995b; Sher et al., 1996). Foi mostrado que camundongos deficientes em IL-10 (Hoffmann et al., 1999) ou tratados com IL-12 (Chougnet et al., 1996) eram quase completamente protegidos por uma vacinação com cercárias irradiadas. Por outro lado, o desenvolvimento de vacinas que minimizem a imunopatologia associada à deposição de ovos nos tecidos também é desejável. Neste sentido, IL-12 foi utilizada como adjuvante em combinação com antígenos do ovo do parasito para prevenir a patologia ante uma infecção desafiadora (Wynn et al., 1995b).

Apesar das ponderações feitas por vários pesquisadores no sentido de aprofundar o conhecimento sobre os mecanismos de defesa do hospedeiro humano, assim como sobre qual seria a melhor caracterização dos atributos biológicos dos antígenos potencialmente vacinais, é certo que algumas questões só poderão ser resolvidas com ensaios clínicos em populações de zona endêmica, tais como os já iniciados para ShGST. Contudo, não basta financiamento para o estabelecimento da eficácia de uma vacina contra a esquistossomose em ensaios populacionais, pois a disponibilidade de recursos financeiros para a produção e distribuição de uma possível vacina pode definir se esta será utilizada primariamente para proteger visitantes provenientes de regiões não endêmicas para esquistossomose ou se será aplicada em larga escala para as populações residentes em zona endêmica. As grandes empresas tecnológicas, talvez por razões relacionadas ao lucro financeiro, não têm demonstrado grande interesse industrial no desenvolvimento de vacinas ou de medicamentos contra as doenças parasitárias humanas, que usualmente são endêmicas e representam problemas de saúde pública apenas nos países em desenvolvimento. Desta forma, é necessário que empresas tecnológicas sejam estimuladas criativamente a se consorciarem com as instituições acadêmicas (universidades e institutos de pesquisa) para, em um esforço conjunto, desenvolverem aquelas vacinas. Tem havido um progresso enorme na compreensão da esquistossomose. Contudo, estamos ainda distantes da produção de uma vacina eficaz para aplicação em larga escala contra a esquistossomose.

REFERÊNCIAS

ABATH, F. G. Development of vaccines against human parasitic diseases: tools, current status and perspectives. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 9: 301-310, 2000.

ABATH, F. G.; MONTENEGRO, S. M. & GOMES, Y. M. Vaccines against human parasitic diseases: an overview. *Acta Tropica*, 71: 237-254, 1998.

ABREU, P. A. et al. Sm14 of *Schistosoma mansoni* in fusion with tetanus toxin fragment C induces immunoprotection against tetanus and schistosomiasis in mice. *Infection and Immunity*, 72: 5.931-5.937, 2004.

AL-SHERBINY, M. et al. In vitro cellular and humoral responses to *Schistosoma mansoni* vaccine candidate antigens. *Acta Tropica*, 88: 117-130, 2003.

ARGIRO, L. L. et al. Identification of a candidate vaccine peptide on the 37 kDa *Schistosoma mansoni* GAPDH. *Vaccine*, 18: 2.039-2.048, 2000.

BALLOUL, J. M. et al. A purified 28,000 dalton protein from *Schistosoma mansoni* adult worms protects rats and mice against experimental schistosomiasis. *Journal of Immunology*, 138: 3.448-3.453, 1987a.

BALLOUL, J. M. et al. Molecular cloning of a protective antigen of schistosomes. *Nature*, 326: 149-153, 1987b.

BERGQUIST, R. Prospects of vaccination against schistosomiasis. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 76, supl.: 60-71, 1990.

BERGQUIST, R. et al. Blueprint for schistosomiasis vaccine development. *Acta Tropica*, 82: 183-192, 2002.

BICKLE, Q. D. et al. Resistance against *Schistosoma mansoni* induced by highly irradiated infections: studies on species specificity of immunization and attempts to transfer resistance. *Parasitology*, 90: 301-312, 1985.

BOULANGER, D. et al. Immunization of mice and baboons with the recombinant Sm28GST after experimental infection with *Schistosoma mansoni*. *Parasite Immunology*, 13: 473-490, 1991.

BUTTERWORTH, A. E. Vaccines against schistosomiasis: where do we stand? *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 86: 1-2, 1992.

BUTTERWORTH, A. E. & HAGAN, P. Immunity in human schistosomiasis. *Parasitology Today*, 3: 11-16, 1987.

BUTTERWORTH, A. E. et al. Immunity and morbidity in *Schistossoma mansoni* infection: quantitative aspects. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 55: 109-115, 1996.

CAPRON, A. Schistosomiasis: Forty Years‘ War on the Worm. *Parasitology Today*, 14: 379-384, 1998.

CAPRON, A. et al. Vaccine strategies against schistosomiasis: from concepts to clinical trials. *International Archives of Allergy and Immunology*, 124: 9-15, 2001.

CAPRON, A. et al. Immunity to schistosomiasis: progress toward vaccine. *Science*, 238: 1.065-1.072, 1987.

CHAN, M. S.; WOOLHOUSE, M. E. & BUNDY, D. A. Human schistosomiasis: potential long-term consequences of vaccination programmes. *Vaccine*, 15: 1.545-1.550, 1997.

CHOUGNET, C. et al. Molecular analysis of decreased interleukin-12 production in persons infected with human immunodeficiency virus. *The Journal of Infectious Diseases*, 174: 46-53, 1996.

COOK, R. M. et al. Nucleic acid vaccination with *Schistosoma mansoni* antioxidant enzyme cytosolic superoxide dismutase and the structural protein filamin confers protection against the adult worm stage. *Infection and Immunity*, 72: 6.112-6.124, 2004.

COULSON, P. S. The radiation-attenuated vaccine against schistosomes in animal models: paradigm for a human vaccine? *Advances in Parasitology*, 39: 271-336, 1997.

DA'DARA, A. A. et al. Immunization with plasmid DNA encoding the integral membrane protein, Sm23, elicits a protective immune response against schistosome infection in mice. *Vaccine*, 20: 359-369, 2001.

DA'DARA, A. A. et al. A DNA-prime/protein-boost vaccination regimen enhances Th2 immune responses but not protection following *Schistosoma mansoni* infection. *Parasite Immunology*, 25: 429-437, 2003.

DEAN, D. A. Schistosoma and related genera: acquired resistance in mice. *Experimental Parasitology*, 55: 1-104, 1983.

DESSEIN, A. J. et al. Human resistance to Schistosoma mansoni is associated with IgG reactivity to a 37-kDa larval surface antigen. *Journal of Immunology*, 140: 2.726-2.736, 1988.

DUNNE, D. W.; HAGAN, P. & ABATH, F. G. C. Prospects for immunological control of schistosomiasis. *The Lancet*, 345: 1.488-1.492, 1995.

DUNNE, D. W. et al. Immunity after treatment of human schistosomiasis: association between IgE antibodies to adult worm antigens and resistance to reinfection. *European Journal of Immunology*, 22: 1.483-1.494, 1992.

EL-SHERBEINI, M. et al. Cloning and sequence analysis of the *Schistosoma mansoni* membrane glycoprotein antigen ene GP22. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 49: 83-98, 1991.

FLANIGAN, T. P. et al. Induction of resistance to *Schistosoma mansoni* infection in mice by purified parasite paramyosin. *The Journal of Clinical Investigation*, 83: 1.010-1.014, 1989.

GRYSEELS, B. Schistosomiasis vaccines: a devils' advocate view. *Parasitology Today*, 16: 46-48, 2000.

HAGAN, P. Reinfection, exposure and immunity in human schistosomiasis. *Parasitology Today*, 8: 12-16, 1992.

HAGAN, P. & ABATH, F. G. Recent advances in immunity to human schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 87, supl. 4: 95-98, 1992.

HAGAN, P.; NDHLOVU, P. D. & DUNNE, D. W. Schistosome immunology: more questions than answers. *Parasitology Today*, 14: 407-412, 1998.

HAGAN, P. et al. Human IgE, IgG4 and resistance to reinfection with *Schistosoma haematobium*. *Nature*, 349: 243-345, 1991.

HARN, D. A. et al. *Schistosoma mansoni*: detection by monoclonal antibody of a 22,000-dalton surface membrane antigen which may be blocked by host molecules on lung stage parasites. *Journal of Immunology*, 135: 2.115-2.120, 1985.

HARN, D. A. et al. A protective monoclonal antibody specifically recognizes and alters the catalytic activity of schistosome triose-phosphate isomerase. *Journal of Immunology*, 148: 562-567, 1992.

HARN, D. A. et al. Synthetic peptide and naked DNA vaccines for *Schistosoma mansoni*. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SCHISTOSOMIASIS, 1995, Salvador, Abstracts. *Anais...* Salvador, 1995a.

HARN, D. A. et al. Synthetic peptide vaccines for schistosomiasis. *Pharmaceutical Biotechnology*, 6: 891-905, 1995b.

HILLEMAN, M. R. Six decades of vaccine development – a personal history. *Nature Medicine*, 4: 507-514, 1998.

HOFFMANN, K. F. et al. Studies with double cytokine-deficient mice reveal that highly polarized Th1- and Th2-Type cytokine and antibody responses contribute equally to vaccine-induced immunity to *Schistosoma mansoni*. *Journal of Immunology*, 163(2): 927-938, 1999.

JAMES, S. L.; PEARCE, E. J. & SHER, A. Prospects for a nonliving vaccine against schistosomiasis based on cell-mediated immune resistance mechanisms. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82, supl. IV: 121-123, 1987.

KATZ, N. Dificuldades no desenvolvimento de uma vacina para a esquistossomose mansoni. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 32: 705-711, 1999a.

KATZ, N. Schistosomiasis vaccines: the need for more research before clinical trials. *Parasitology Today*, 15: 165-166, 1999b.

KAYE, P. M. et al. Strategies for immune intervention in visceral leishmaniasis. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 89, supl. 1: 75-81, 1995.

KNIGHT, M. et al. A cDNA clone encoding part of the major 25000-daalton surface membrane antigen of adult *Schistosoma mansoni*. *Parasitology Research*, 75: 280-286, 1989.

LANAR, D. E. et al. Identification of paramyosin as schistosome antigen recognized by intradermally vaccinated mice. *Science*, 234: 593-596, 1986.

LEBENS, M. et al. A mucosally administered recombinant fusion protein vaccine against schistosomiasis protecting against immunopathology and infection. *Vaccine*, 21: 514-520, 2003.

MAHMOUD, A. A. F. Parasitic protozoa and heminths: biological and immunological challenges. *Science*, 246: 1.015-1.022, 1989.

MATSUMOTO, Y. et al. Paramyosin and actin in schistosomal teguments. *Nature*, 333: 76-78, 1988.

MCKERROW, J. H. & DOENHOFF, M. J. Schistosome proteases. *Parasitology Today*, 4: 334-340, 1988.

MOHAMED, M. M. et al. Characterization of Sm20.8, a member of a family of schistosome tegumental antigens. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 96: 15-25, 1998.

MOSER, D. et al. A 14-kDa *Schistosoma mansoni* polypeptide is homologous to a gene family of fatty acid binding proteins. *The Journal of Biological Chemistry*, 266: 8.447-8.454, 1991.

NARA, T. et al. The B cell epitope of paramyosin recognized by a protective monoclonal IgE antibody to *Schistosoma japonicum*. *Vaccine*, 15: 79-84, 1997.

OMER-ALI, P. et al. Structure of Sm25, an antigenic integral membrane glycoprotein of adult *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 45: 215-222, 1991.

PEARCE, E. J. Progress towards a vaccine for schistosomiasis. *Acta Tropica*, 86: 309-313, 2003.

PEARCE, E. J. et al. Immunochemical characterization and purification of Sm-97, a *Schistosoma mansoni* antigen monospecifically recognized by antibodies from mice protectively immunized with a nonliving vaccine. *Journal of Immunology*, 137: 3.593-3.600, 1986.

PEARCE, E. J. et al. Induction of protective immunity against *Schistosoma mansoni* by vaccination with schistosome paramyosin (Sm97), a nonsurface parasite antigen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 85: 5.678-5.682, 1988.

PETZKE, M. M. et al. *Schistosoma mansoni* gene GP22 encodes the tegumental antigen Sm: (1) antibodies to a perdicted B-cell epitope of Sm25 cross-react with other candidate vaccine worm antigens; (2) characterization of a recombinant product containing tandem-repeats of this peptide as a vaccine. *Parasite Immunology*, 22: 381-395, 2000.

REYNOLDS, S. R.; DAHL, C. E. & HARN, D. A. T and B epitope determination and analysis multiple antigenic peptides for the *Schistosoma mansoni* triose-phosphate isomerase. *Journal of Immunology*, 152: 193-200, 1994.

RIBEIRO DE JESUS, A. et al. Human immune responses to *Schistosoma mansoni* vaccine candidate antigens. *Infection and Immunity*, 68: 2.797-2.803, 2000.

RICHTER, D.; INCANI, R. N. & HARN, D. A. Lacto-N-fucopentaose III (Lewis x), a target of the antibody response in mice vaccinated with irradiated cercariae of *Schistosoma mansoni*. *Infection and Immunity*, 64: 1.826-1.831, 1996.

RICHTER, D.; REYNOLDS, S. R. & HARN, D. A. Candidate vaccine antigen that stimulate the cellular immune response of mice vaccinated with irradiated cercariae of *Schistosoma mansoni*. *Journal of Immunology*, 151: 255-265, 1993.

RIHET, P. et al. Evidence for an association between human resistance to *Schistosoma mansoni* and high anti-larval IgE levels. *European Journal of Immunology*, 21(11): 2.679-2.686, 1991.

SHER, A. et al. Schistosome vaccines: current progress and fututure prospects. *Parasitology*, 98: S61-S68, 1989.

SHER, A. et al. An IL-12 based vaccine approach for preventing immunopathology in schistosomiasis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 795: 202-207, 1996.

SHOEMAKER, C. B. et al. cDNA cloning and functional expression of the *Schistosoma mansoni* protective antigen triose-phosfate isomerase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 189: 1.842-1.846, 1992.

SMITHERS, S. R. & DOENHOFF, M. J. Schistosomiasis. In: COHEN, S. & WARREN, K. S. (Eds.) *Immunology of Parasitic Infections*. Oxford: Blackwell Scientific, 1982.

SMITHERS, S. R. & TERRY, R. J. Resistance to experimental infection with Schistosoma mansoni in rhesus monkeys induced by the transfer of adult worms. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 61: 517-533, 1967.

SMITHERS, S. R. & TERRY, R. J. Immunity in schistosomiasis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 160: 826-840, 1969.

SOISSON, L. M. A. & STRAND, M. *Schistosoma mansoni*: induction of protective immunity in rats using a recombinant fragment of a parasite surface antigen. *Experimental Parasitology*, 77: 492-494, 1993.

SOISSON, L. M. A. et al. Induction of protective immunity in mice using a 62-kDa recombinant fragment of a *Schistosoma mansoni* surface antigen. *Journal of Immunology*, 149: 3.612-3.620, 1992.

SOISSON, L. M. A. et al. Protective immunity in baboons vaccinated with a recombinant antigen or radiation-attenuated antibody-dependent. *Journal of Immunology*, 151: 4.782-4.789, 1993.

TAYLOR, M. G. & BICKLE, Q. D. Towards a schistosomiasis vaccine: irradiated schistosome vaccines. *Parasitology Today*, 2: 132-136, 1986.

TENDLER, M. et al. A *Schistosoma mansoni* fatty acid-binding protein, Sm14, is the potential basis of a dual-purpose anti-helminth vaccine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 93: 269-273, 1996.

VARALDO, P. B. et al. Recombinant *Mycobatecrium bovis* BCG expressing the Sm14 antigen of *Schistosoma mansoni* protects mice from cercarial challenge. *Infection and Immunity*, 72: 3.336-3.343, 2004.

VERJOVSKI-ALMEIDA, S. et al. Transcriptome analysis of the acoelomate human parasite *Schistosoma mansoni*. *Nature Genetics*, 35: 148-157, 2003.

WAINE, G. J. et al. A dominant B-cell epitope on the 22kDa tegumental menbrane associated antigen of *Schistosoma japonicum* maps to an EF-hand calcium binding domain. *Parasite Immunology*, 19: 337-345, 1997.

WEBSTER, M. et al. Human IgE responses to rSm22.6 are associated with infection intensity rather than age per se, in a recently established focus of Schistomiasis mansoni. *Tropical Medicine & International Health*, 3: 318-326, 1998.

WESTON, D. et al. Cloning and sequencing of a complet myosin heavy chain cDNA from *Schistosoma mansoni*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 58: 161-164, 1993.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Special programme for research and training in tropical diseases (TDR). *TDR News*, 54, 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations*. Geneve: WHO, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). World Health Organization special programmed for research and training in tropical disease, 2004a. Disponível em: <www.who.int/tdr>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). The world health report 2004: changing history, 2004b. Disponível em: http://www.who.int/whr/en.

WILKINS, H. A. et al. Resistance to reinfection after treatment of urinary schistosomiasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 81: 29-35, 1987.

WILSON, R. A.; COULSON, P. S. & MCHUGH, S. M. A significant part of the 'concomitant immunity' of mice to *Schistosoma mansoni* is the consequence of a leaky hepatic portal system, not immune killing. *Parasite Immunology*, 5: 595-601, 1983.

WOLOWCZUK, I. et al. Protective immunity in mice vaccinated with the *Schistosoma mansoni* P-28-1 antigen. *Journal of Immunology*, 142: 1.342-1.350, 1989.

WOLOWCZUK, I. et al. Antigenicity and immunogenicity of a multiple peptidic construction of the *Schistosoma mansoni* Sm-28 GST antigen in rat. 1. Partial protection of Fischer rat after active immunization. *Journal of Immunology*, 146: 1.987-1.995, 1991.

WYNN, T. A. & HOFFMANN, K. F. Defining a schistosomiasis vaccination strategy - is it really Th I versus Th 2? *Parasitology Today*, 16(11): 497-501, 2000.

WYNN, T. A. et al. An IL-12-based vaccination method for preventig fibrosis induced by schistosome infection. *Nature*, 376: 594-596, 1995a.

WYNN, T. A. et al. IL-12 enhances vaccine-induced immunity to *Schistosoma mansoni* in mice and decreases T helper 2 cytokine expression, IgE production, and tissue eosinophilia. *Journal of Immunology*, 154: 4.701-4.709, 1995b.

XU, C. B. et al. *Schistosoma mansoni* 28-kda glutathione S-transferase and immunity against parasite fecundity and egg viability. *Journal of Immunology*, 150: 940-949, 1993.

YANG, W. et al. Multi-epitope schistosome vaccine candidates tested for protective immunogenicity in mice. *Vaccine*, 19: 103-113, 2001.

YOLE, D. S. et al. Protective immunity to *Schistosoma mansoni* induced in the olive baboon *Papio anubis* by the irradiated cercaria vaccine. *Parasitology*, 112: 37-46, 1996.

ZHANG, Y. et al. Vaccination of mice with a cocktail DNA vaccine induces a Th1-type immune response and partial protection against *Schistosoma japonicum* infection. *Vaccine*, 20: 724-730, 2001.

ZHANG, Y. Y. et al. Immunogenicity of plasmid DNA encoding the 62 kDa fragment of *Schistosoma japonicum* myosin. *Vaccine*, 18: 2.102-2.109, 2000.

35 Educação em Saúde no Controle da Esquistossomose

Virgínia Torres Schall
Cristiano Lara Massara
Maria Cecília Pinto Diniz

Ações educativas em escolas de áreas endêmicas.

A compreensão da esquistossomose, como da maioria das doenças tropicais, transcende sua causa biológica e requer o entendimento de fatores sociais, econômicos, culturais e comportamentais envolvidos. Assim, o seu controle demanda medidas integradas que incluem diagnóstico, tratamento, controle de vetores, saneamento mas, sobretudo, envolvimento e participação da população no processo, o que pode ser alcançado por intermédio de programas de educação em saúde, como destacam Barbosa, Silva & Barbosa (1996), Dias & Garcia (1976), Kloetzel (1992), dentre outros.

Contudo, assim como a própria área de educação em saúde só começa a ser sistematicamente desenvolvida na década de 1920, a história do controle da esquistossomose revela que, até a década de 1930, os programas estiveram centrados no controle dos caramujos, estratégia mundialmente enfatizada (Warren & Newill, 1967). Algumas iniciativas educativas estiveram presentes em trabalhos desenvolvidos entre as décadas de 1930 e 1970, nos quais, entretanto, era ignorado o contexto sociocultural e econômico das populações (Schall, 1998), inseridas marginalmente em programas de controle verticais. As abordagens biomédicas e a busca por vacinas, medicamentos e moluscicidas são predominantes, congregando maior número de pesquisadores e maior volume de recursos até hoje. Cada novo sucesso, como o desenvolvimento de drogas mais efetivas e seguras no fim da década 1970, nem sempre se fez acompanhar de estratégias educativas que pudessem potencializar o controle. Assim, se até a década de 1930 predominou como medida de controle o conceito de redução da transmissão (sinônimo de controle de moluscos naquela época), com o advento das novas drogas passou-se ao conceito de controle da morbidade, o que é realidade para a maioria dos países endêmicos, em muitos dos quais a participação da população é restrita e as ações educativas são pontuais e descontínuas. Hoje ainda prevalece uma ênfase curativa, embora a esquistossomose requeira, sobretudo, medidas preventivas, associadas a educação ambiental e em saúde, perante o componente ecológico presente na estrutura epidemiológica de sua transmissão.

Neste capítulo pretende-se estabelecer um breve histórico da área de educação em saúde, com ênfase no Brasil e nas ações relativas à esquistossomose; apresentar e discutir alguns conceitos, alternativas metodológicas, abordagens participativas e processos de avaliação; e descrever alguns exemplos de experiências e perspectivas. Está também incluída uma lista comentada de materiais e *sites* úteis para aplicação ou elaboração de programas educativos.

BREVE PERSPECTIVA HISTÓRICA DA EDUCAÇÃO EM SAÚDE NO BRASIL: COMPREENDENDO OS LIMITES E O ALCANCE DAS AÇÕES RELATIVAS À ESQUISTOSSOMOSE

Antes de iniciar a apresentação do breve histórico das ações de educação em saúde associadas à esquistossomose no Brasil, faz-se necessário estabelecer o que os autores consideram por saúde, a qual permeará todo o enfoque analítico ora apresentado. Portanto, a saúde é aqui considerada como um estado de bem-estar que depende de fatores físicos, mentais, ambientais e sociais, pelo que seu estudo exige a comunhão e partilha de conhecimentos de várias disciplinas. Se considerado que cada ação afeta a saúde do indivíduo e a dos outros, eis uma oportunidade de se construir conhecimentos que conduzam ao bem-estar. Neste sentido, a saúde deixa de ser um bem adquirido de uma forma passiva para tornar-se uma criação do sujeito na relação consigo próprio ou com os outros.

Ao longo do tempo e em diferentes áreas profissionais, numa mesma época, a expressão resultante da combinação do termo educação com saúde é distinta e caracteriza um conceito polissêmico. A cada época, sofre influências de caráter político, pedagógico, científico, integrando significados e metodologias diversas. Considerando a educação em saúde relativa à esquistossomose, diferentes enfoques e sua aplicabilidade podem ser discutidos. Aqui serão apenas referidas as principais tendências de alguns períodos, para sinalizar as marcas, limites e evolução das ações a cada tempo.

A Evolução e a Experimentação das Ações de Educação em Saúde e o Controle da Esquistossomose: do início do século XX à década de 1950

Desde o início do século, com a descrição dos primeiros casos de esquistossomose mansoni no Brasil por Pirajá da Silva (1908), até aproximadamente meados da década de 1950, a maioria dos estudos realizados sobre a doença diziam respeito à localização de áreas de ocorrência e à procedência dos doentes, produzindo informações que se mostravam parciais. Ante a carência de dados, Pellon & Teixeira (1950) planejaram a realização de um inquérito que elucidasse a incidência das helmintoses, as quais representavam um grande problema para o país. Esses pesquisadores estavam determinados a colaborar com o Departamento Nacional de Saúde, que na administração do higienista e professor Barros Barreto iniciava campanhas de profilaxia. Assim, em agosto de 1950, por intermédio da Divisão de Organização Sanitária, Pellon e Teixeira publicaram o mais completo inquérito de distribuição da esquistossomose mansoni no Brasil (Figura 1).

Deste modo, até meados do século XX, pode-se dizer que, em relação à esquistossomose, não existia oficialmente no Brasil nenhum programa que utilizasse a educação em saúde como subsídio ao trabalho com populações de áreas endêmicas. Até 1947, os trabalhos realizados estavam circunscritos ao diagnóstico e à avaliação de prevalência, por intermédio de inquéritos coprológicos de pequena abrangência (Pellon & Teixeira, 1950). A partir de 1954, a campanha de controle da esquistossomose conduzida pela Divisão de Organização Sanitária do Ministério da Educação e Saúde foi incorporada ao Serviço Nacional de Malária.

Um exemplo de material, produzido nesta época, relativo à doença (Figura 2) é um prospecto desenvolvido pelo Serviço Nacional de Malária, com data provável de 1953, com o seguinte objetivo: "despertar o interesse público em torno de tão grave problema sanitário (...), ou dos administradores e indivíduos capazes de esclarecerem e orientarem os menos dotados e mesmo procurar realizar as medidas recomendáveis para a solução do problema" (Serviço Nacional de Malária, 1953).

Figura 1 – Imagem de capa e contracapa do livro *Distribuição da Esquistossomose Mansônica no Brasil* (Pellon & Teixeira, 1950)

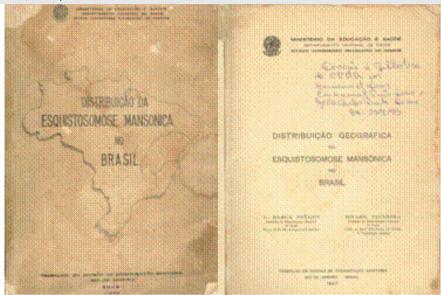
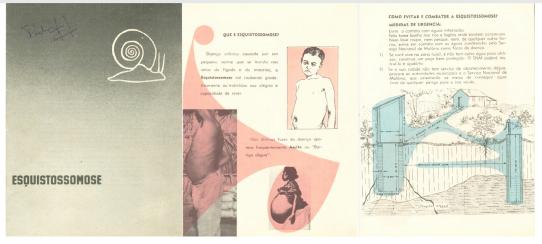



Figura 2 – Imagens de capa e de duas páginas internas do prospecto desenvolvido pelo Serviço Nacional de Malária, com data provável de 1953

Em reflexão crítica sobre a prática de educação em saúde no controle das endemias, Carmo (1987) mostrou que:

> a não efetividade da Educação Sanitária, está relacionada a certa distância da ação educativa de um conhecimento epidemiológico mais consistente, dos objetivos e prioridades estabelecidas nos programas de controle das endemias; a ênfase excessiva nas tecnologias de combate, dificultando a inserção das atividades de educação e planejamento geral dos programas; métodos e técnicas voltados para a transmissão de conhecimento de forma verticalizada e imediatista; falta de espaço nas instituições para a participação real das populações. (Carmo, 1987: 293-294)

A Educação em Saúde na Década Iniciada em 1950: a participação individual e da comunidade como uma política pública

A partir de meados da década de 1950 a política de saúde sofreu grandes modificações, decorrentes do período conturbado em que vivia o país com os mandatos de Getúlio Dornelles Vargas. No ano de 1953, durante o segundo governo Vargas, foi criado o Ministério de Saúde. A nova pasta contou com verbas irrisórias, mostrando o descaso com a saúde pública. A falta de recursos impedia o Estado de atuar com eficácia na péssima situação da saúde coletiva, não havendo nesta década uma redução significativa nos índices de morbimortalidade (Rezende & Heller, 2002). Uma mudança no rumo das orientações para o setor passou a privilegiar o modelo assistencialista e o caráter emergencial das ações, num enfoque que primava pela intervenção no ambiente em favor da visão de cura das doenças. As ações sanitárias durante esse período voltaram-se para o uso de quimioterápicos e biocidas, além da hegemonia do modelo assistencial voltado para a terapia.

Nos primeiros anos de atuação do Ministério da Saúde, o combate às endemias – doença de Chagas, malária, tracoma e esquistossomose – e a promoção de campanhas de educação sanitária para a população rural foram priorizados. Para tanto, em 1956 foi criado o Departamento Nacional de Endemias Rurais (DNERu), agregando os antigos serviços voltados contra malária, peste e febre amarela. Este órgão procurou adotar um modelo administrativo dinâmico e prático, espelhado no serviço desenvolvido pelo Sesp (Fonseca, 1989).

Iniciaram as primeiras pesquisas envolvendo a educação sanitária, relacionadas à esquistossomose. Segundo Garcia (1966):

> os programas de educação sanitária no controle da esquistossomose realizados pelo Departamento Nacional de Endemias Rurais, no tempo em que era coordenador da campanha contra aquela endemia o Dr. Olympio da Silva Pinto, revestiram-se sempre de um caráter experimental onde a rigidez de métodos foi abolida e onde foram possíveis constantes adaptações e reformulações na base de avaliações periódicas. (Garcia, 1966: 178)

Experiências positivas começam a surgir com o envolvimento de pesquisadores como Hortênsia de Hollanda, Angelina Garcia, Joaquim Cardoso de Melo e outros que, no dizer de Garcia (1966), foram referendados pelo então perito da OMS, dr. Buzzo, como sendo "o melhor de que se tenha notícia no Brasil" (Figura 3).

Em artigo publicado em 1959, Hollanda descreve uma das atividades em que as ações assistenciais e educativas se impunham para a melhoria das condições de vida. Relata algumas das primeiras tentativas de controle da esquistossomose baseadas na Educação Sanitária, iniciadas em março de 1955, em duas localidades do Nordeste brasileiro, uma com doze mil e outra com seis mil habitantes, situadas na periferia da capital da Paraíba. Segundo Hollanda:

> para que as medidas profiláticas fossem sentidas como necessidades, e fossem executadas, mantidas e multiplicadas pela população, o programa foi implantado aos poucos, com a participação de um número crescente de moradores, reunidos e orientados pelas educadoras sanitárias dos postos de tratamento, em ambas as localidades. (...) A linha dominante na orientação desses grupos foi a do encaminhamento para a responsabilidade individual e coletiva no que se refere às questões de saúde. (Hollanda, 1959: 527)

A partir da década de 1950, os discursos de educação em saúde, não só para com a esquistossomose, passam a enfatizar a participação do indivíduo e da comunidade como uma política pública. Tal participação

está em sintonia com as exigências de modernização que visavam tirar o homem rural do atraso cultural e integrá-lo no processo de desenvolvimento.

Figura 3 – Foto de Hortênsia de Hollanda (ao fundo) com Angelina Garcia, em visita ao Centro de Pesquisa René Rachou/Fiocruz

Foto: arquivo pessoal da professora Angelina Garcia (data provável, 1956).

A educação em saúde apareceu na legislação que regulava o funcionamento dos órgãos públicos de saúde e nas normas sanitárias, especificamente na lei n. 2.312, de 3 de setembro de 1954 (Normas Gerais sobre Defesa e Proteção da Saúde), que estabelecia, em seu artigo 3°., caber à União "manter órgãos de saúde e assistência que, entre outras atribuições, terá aquela de realizar a educação sanitária do povo" (Brasil, 1961).

O órgão federal de saúde pública (Ministério da Saúde) dizia ainda, na referida lei, em seu artigo 24°.: "traçará as normas para a educação sanitária do povo, orientando o indivíduo na defesa de sua saúde. (...) No currículo das escolas primárias do país serão incluídas noções de higiene e de saúde, orientadas sob o ponto de vista sanitário pela autoridade sanitária competente" (Brasil, 1961).

Durante este período, o chamado desenvolvimento da comunidade começou a ganhar espaço no Brasil, patrocinado por instituições americanas preocupadas com o crescimento dos problemas decorrentes da pobreza, mas sobretudo, com o possível avanço do comunismo no mundo. O argumento de que "a pobreza é um entrave e uma ameaça tanto para essas populações (pobres) como para as áreas mais prósperas" e de que "na atual luta ideológica os povos famintos têm mais receptividade para a propaganda comunista internacional do que as nações prósperas" estimularam, já na década de 1950, uma série de convênios do governo com os Estados Unidos, como, por exemplo, a criação do Serviço Especial de Saúde Pública (Sesp) por intermédio da Fundação Rockefeller (Fonseca, 1989).

Segundo Melo (1987), o modelo americano de saúde foi reforçado pelo Sesp, que proporcionou a muitos profissionais brasileiros a especialização em *Health Education*, nos Estados Unidos. O Serviço Social integrava-se à educação e à saúde, enquanto prática de intervenção social, tendo uma grande relevância nesse período.

A Fundação Sesp cumpriu outros papéis relevantes, além de introduzir a ideologia do desenvolvimento de comunidade, a participação comunitária e a educação de grupos. Influenciou na reforma do currículo da Faculdade de Higiene e Saúde Pública e particularmente no currículo da educação sanitária. Os fatores sociais, econômicos e culturais foram incorporados na maneira de perceber e explicar a saúde/doença. A educação de indivíduos era a solução para prevenir doenças e caminhar para um estado de saúde, rompendo por fim com as barreiras do higienismo (Melo, 1987).

Grande parte dos poucos recursos destinados ao setor de saúde era aplicada no pagamento dos serviços prestados por hospitais particulares e nas campanhas de vacinação. Começou a emergir a medicina privada cuja atuação tornou-se progressiva no território brasileiro a partir de 1965. Em 1966 foi criado o Instituto Nacional de Previdência Social (INPS), cujo objetivo principal consistia no tratamento individual dos doentes, enquanto o Ministério da Saúde ficaria responsável pela execução de programas sanitários e de controle de epidemias.

Numa releitura do artigo de Garcia (1966), Schall (1989) comenta que, depois de apresentar as experiências educativas mais importantes em relação à esquistossomose, aquelas caracterizadas pela experimentação, avaliação e reformulação constantes, a autora conclui em desalento que “a descontinuidade administrativa, que solapa a eficiência do setor público em nosso país, interrompeu o projeto” (Garcia, 1966).

Análise Crítica da Educação em Saúde a partir de 1960 e o seu Reflexo no Controle da Esquistossomose

Apesar do crescimento industrial, intensificado na época do presidente Juscelino Kubitschek de Oliveira, a infra-estrutura do país no começo da década de 1960 era precária. O abastecimento de água e eletricidade era insuficiente para atender às necessidades do Rio de Janeiro e de São Paulo, e os racionamentos eram constantes. A educação e a saúde pública eram medíocres e inadequadas. O sistema educacional, além de não alfabetizar a grande massa da população, não formava a mão-de-obra qualificada necessária à industrialização. A saúde era esquecida e no campo a situação era de miséria e subordinação ao poder de polícia ou ao paternalismo coronelista dos grandes proprietários dos latifúndios improdutivos. A migração tanto rural como urbana para as grandes cidades se intensificou. Os chamados ‘paus-de-arara’ iam para as cidades em busca de melhores condições de vida, e passavam a morar nas favelas que, sem saneamento básico ou investimentos públicos, estavam começando a crescer em quantidade (Cáceres, 1995).

O regime militar foi instaurado pelo golpe de 1º. de abril de 1964. O plano político era marcado pelo autoritarismo, pela supressão dos direitos constitucionais, pela perseguição política, prisão e tortura dos opositores e pela imposição da censura prévia aos meios de comunicação. Neste período, configurou-se o esvaziamento do Ministério da Saúde, resultando em um estímulo à individualização da saúde pública e a uma completa dissociação do setor de saúde, que passou a ser centrado no modelo assistencial.

Em relação à educação em saúde, algumas mudanças começaram a surgir com a reformulação da estrutura do Serviço Nacional de Educação Sanitária e a integração das atividades de educação no planejamento das ações dos demais órgãos do Ministério da Saúde, embora sem exeqüibilidade organizada na prática. Buscava-se melhor adequação das ações a tendências apontadas internacionalmente, firmadas em eventos internacionais. Num deles, com sede em Genebra (1958), a 12ª Assembléia Mundial da Saúde, foi reafirmado o conceito de que “a educação sanitária abrange a soma de todas aquelas experiências que modificam ou exercem influência nas atitudes ou condutas de um indivíduo com respeito à saúde e dos processos expostos necessários para alcançar estas modificações” (Levy et al., 2002). Num segundo, a 5ª

Conferência de Saúde e Educação Sanitária, realizada na Filadélfia, em 1962, o diretor geral da Organização Mundial de Saúde (OMS) assinalou que "os serviços de educação sanitária estavam sendo chamados a desempenhar um papel de primeiríssima importância para saltar o abismo que existia entre descobrimentos científicos da medicina e sua aplicação na vida diária de indivíduos, famílias, escolas e distintos grupos da coletividade" (Levy et al., 2002).

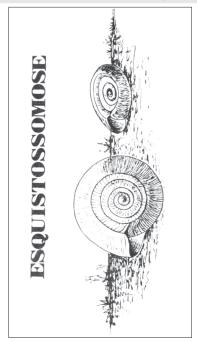
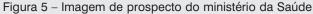
No Brasil, os educadores sanitários passaram então a atuar em quatro setores básicos: grupos escolares, cursos, área de saúde dos setores de orientação pedagógica e ensino normal. Organizaram-se em grupos que assumiram o planejamento e execução das programações específicas de cada setor (Vianna, 1990).

Por iniciativa da Fundação Sesp, em 1967, foi reaberto o curso de educação sanitária na Faculdade de Saúde Pública da USP, com novo nome: educação em saúde pública, formando o educador de saúde pública (Melo, 1987). O profissional que tem acesso a esse curso não é mais o professor primário, mas o profissional de nível superior, preferencialmente das áreas das ciências sociais.

Para Melo (1987), entre o final da década de 1960 e o início da década de 1970 é o "período negro da educação sanitária", que perde espaço para a nova racionalidade vigente no interior do Sistema Nacional de Saúde. O único campo que lhe resta é o da educação visando ao planejamento familiar.

Em 1970, com a junção da Campanha de Erradicação da Malária e do Departamento Nacional de Endemias Rurais (DNERu), originando-se a Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (Sucam), o programa de controle da esquistossomose passou a ser de responsabilidade desse último órgão. Desta época são os prospectos apresentados nas Figuras 4 (secretaria de Saúde Pública, 1968) e 5 (Ministério da Saúde, s.d.): elaborados sem recursos tecnológicos e pouco atraentes para o público a que se destinavam, utilizavam textos extensos e desenhos caricaturais, abordando apenas o ciclo da doença e as formas de combate.

Figura 4 – Imagem de prospecto da secretaria de Saúde Pública, 1968

Figura 5 – Imagem de prospecto do ministério da Saúde

Segundo Levy et al. (2002), é importante ressaltar um movimento de verdadeira transformação conceitual, muito mais que uma mudança terminológica de educação sanitária para educação em saúde. O que se pretendia era a introdução do componente de educação nos programas de saúde desenvolvidos pelo ministério e pelas secretarias estaduais de Saúde. E foi o que aconteceu, segundo os autores, "devido ao vício antigo da centralização velada ou explícita, tanto nas atividades dos programas ditos verticais quanto nas práticas de planejamento e coordenação elaboradas e dirigidas pelo nível central sem que os executores das ações finalísticas delas participassem" (Levy et al., 2002).

Mas Vasconcelos (1998) argumenta que o governo militar criou contraditoriamente condições de emergência de uma série de experiências de educação em saúde que significaram uma ruptura com os padrões estabelecidos pelas elites. Junto aos movimentos sociais emergentes começaram a surgir experiências de serviços comunitários de saúde desvinculados do Estado, nas quais os profissionais da saúde aprenderam a se relacionar com os grupos populares, começando a esboçar tentativas de organização de ações de saúde integradas à dinâmica social de cada local.

Por sua vez, Melo (1987), em sua leitura histórica do processo, demarcou uma nova fase para a educação em saúde, com início em 1975. Para o autor, principalmente três fatos tornam marcante a data:

- criação do Programa de Educação Sanitária e Ação Comunitária da Fundação Mobral para o Nordeste;
- realização da IV Jornada Brasileira de Estudos de Educação em Saúde, em Brasília;
- celebração de convênio entre o ministério da Educação e Cultura e o ministério da Saúde, por meio, respectivamente, do Programa de Melhoria e Expansão do Ensino e da Divisão Nacional de Educação Sanitária (MEC/Premem-MS/DNES), para elaboração de novos materiais de ensino de saúde. Em decorrência deste convênio foi publicado o livro *Saúde, como Compreensão de Vida*, pelo ministério da Saúde. A importância deste livro é destacada logo adiante.

Melo (1987) relatou ainda que esses eventos ocorreram numa nova conjuntura econômica, política e social, o fim do 'milagre brasileiro', em que o governo precisava diminuir e aliviar as tensões geradas pelo modelo econômico e pela crise do fim do milagre, passando assim a incorporar a participação comunitária no discurso oficial.

Schall (1999), em entrevista com Hollanda, educadora que organizou, em colaboração com outros destacados pesquisadores brasileiros da área da saúde, o livro *Saúde, como Compreensão de Vida* (fruto do convênio MS/DNES-MEC/Premem), ressaltou a sua importância naquela época. O livro tornou-se possível sob a coordenação da professora Hollanda, pioneira na educação em saúde no Brasil, que liderou um trabalho inédito de construção coletiva de texto, envolvendo a participação de professores e comunidade, resultando numa iniciativa avançada para a época e em uma publicação fundamental e exemplar para a área.

Naquela publicação, Hollanda incluiu a esquistossomose como um dos temas relacionados aos modos de o homem morar e a saúde. O material, fruto de uma pesquisa realizada em Capim Branco (1974-1975), mostra que a linguagem foi o campo descoberto à investigação das idéias, pensamentos e conceitos, revelando que "os conhecimentos e os julgamentos sobre saúde fluem no cotidiano de cada um, com valores e conotações que às vezes estão bem distantes dos pressupostos que tratam de saúde" (Hollanda, 1977) (Figuras 6, 7, 8). Ainda na introdução do livro, encontra-se como justificativa do trabalho que

> conhecimentos sobre parasitoses intestinais, valores dos alimentos ou modos de defesa do homem, introduzidos em situações com tais características, permitem relacionar causas e efeitos, fazer comparações, associações que estimulem o pensamento e a formação de julgamentos, induzindo a uma compreensão de saúde não limitada apenas ao que está sendo descoberto na sala de aula. Vai além, toca a experiência de cada um. (Hollanda, 1977: 12)

Figura 6 – Imagem de capa do livro *Saúde, como Compreensão de Vida*, 1977

Fonte: Hollanda (1977).

Figura 7 – Imagem de ficha informativa, encarte do livro *Saúde, como Compreensão de Vida*, 1977

FICHA INFORMATIVA: O TRAJETO DE VIDA DO SCHISTOSOMA MANSONI

Schistosoma

(o macho fendido abrigando num canal a fêmea; daí o nome de schisto = fendido).
Macho e fêmea adultos do parasita, acasalados, vivendo nas veias do aparelho digestivo das pessoas que sofrem de esquistossomose.

O doente de esquistossomose:

impede a propagação da doença se os ovos contidos nas suas fezes morrem no buraco de uma fossa (2) ou na rede de esgotos bem construídos; quando os ovos morrem dessecados, em solo seco, sem chuvas, longe de qualquer água (3).

ajuda a propagação da doença — quando as fezes contendo ovos são deixadas no chão, próximo à água doce e para aí levadas pela chuva (4), enxurrada, ou manilha de esgoto. Ou quando forem jogadas diretamente na água (1).

Ovo do Schistosoma:

Ovos postos pela fêmea atravessam a parede das veias intestinais e caem no tubo digestivo (intestino). Junto com as fezes saem para fora do organismo humano, para uma fase de vida livre. Outros ovos vão para o fígado da pessoa, prejudicando e agravando a situação do doente.

Miracídio

Na água o ovo do Schistosoma se abre e um pequeno parasito jovem é liberado (dá o nome de miracídio = menino). O miracídio respira o oxigênio da água, mas não se alimenta. É dotado de muitos cílios que lhe permitem uma intensa movimentação na água, à procura de um caramujo para nele se hospedar. Ele contém dentro de si massas germinativas que darão origem, durante a sua permanência de 20 a 30 dias no caramujo a milhares de cercárias. Não é visível a olho nú.

Caramujo

As espécies de caramujo que são hospedeiras do Schistosoma reproduzem-se rapidamente e chegam a formar numerosas populações se encontram condições favoráveis: água mansa, sem correnteza, rica em matéria orgânica para sua alimentação, com temperaturas entre 20 e 28 graus C. Valas de irrigação, poças, regos no quintal das casas, riachos e poços das lavadeiras, podem oferecer as condições ótimas para os caramujos. Alguns caramujos adoecem e morrem com a penetração do Schistosoma. Resistem à dessecação nos periodos de seca, enterrados, por vários meses, no barro úmido, esperando que as águas voltem para subir à superfície.

Cercária

No caramujo, cada miracídio se transforma, se multiplica em milhares de cercárias que saem para uma fase de vida livre na água, onde procuram um hospedeiro vertebrado. A cauda que possuem para ajuda-las a nadar cai quando penetram no hospedeiro. Aí já não precisam mais nadar, pois são impelidas pela corrente sanguínea. As cercárias são visiveis com uma lente de aumento.

As cercárias — depois de penetrarem, com grande esforço, na pele de um vertebrado, — se encaminham para os vasos da circulação do sangue e acabam se alojando nas veias do aparelho digestivo do hospedeiro. Aí se desenvolvem e se transformam em vermes adultos, aptos a se acasalarem e gerar embriões, dentro de ovos que terão que sair com as fezes do hospedeiro para alcançarem as águas onde poderão encontrar caramujos (hospedeiros intermediários), e depois um homem...

Fonte: Hollanda (1977).

Figura 8 – Imagem de encarte do livro *Saúde, como Compreensão de Vida*, 1977, mostrando exemplos de trabalhos executados pelos alunos participantes da pesquisa de desenvolvimento do texto, em parceria com professores e alunos

Fonte: Hollanda (1977).

Em 1980, o Programa Especial de Controle da Esquistossomose (Pece), sob coordenação da extinta Sucam, foi redimensionado, passando à categoria de Programa Especial para Programa de Controle da Esquistossomose (PCE). No início do Pece, áreas-piloto foram escolhidas para implantação de medidas integradas de controle: quimioterapia (tratamento em massa), aplicação de moluscicidas, educação em saúde e saneamento. O programa, após o tratamento em massa, não obteve o sucesso esperado pelas autoridades governamentais no sentido da manutenção dos bons resultados iniciais (Coutinho & Domingues, 1991). E em algumas áreas onde foram realizados estudos de avaliação do Pece, as taxas de prevalência detectadas indicaram que a transmissão não foi interrompida pelas estratégias adotadas (Kloetzel & Vergetti, 1988).

O programa não foi devidamente avaliado em sua totalidade e, mesmo naquelas áreas onde se pretendeu integrar medidas, ocorreram falhas operacionais que não permitiram a harmonia das ações técnicas, isso tudo devido ao caráter vertical de sua estrutura burocrática e à falta de compromisso social para com as populações assistidas.

Dentre as medidas de controle da esquistossomose, a educação em saúde foi aquela a que menos se concedeu atenção, ainda que, desde a época do DNERu, estivessem previstas "atividades de esclarecimento à população", tendo como centro de irradiação a rede escolar (Amaral & Porto, 1994).

Para Melo (1987), o momento exigia, a partir das críticas elaboradas e oriundas de vários setores, novas formas de intervenção social:

> em nosso entender, é necessário pensar a Educação e a Saúde não mais como uma educação sanitarizada (educação sanitária) ou localizada no interior da saúde (educação em saúde) ou ainda educação para a saúde (como se a saúde pudesse ser um estado que se atingisse depois de educado!). É preciso recuperar a dimensão da Educação e da Saúde/doença e estabelecer as articulações entre esses dois campos e os movimentos (organizados) sociais. E mais – como práticas sociais articuladas com as necessidades e possibilidades das classes populares na formação de políticas sociais e das formas de organização social que lhes interessam. (Melo, 1987: 40)

Assim, pode-se dizer que a década de 1980 foi marcada por inúmeras críticas à saúde, à educação e, em relação à educação em saúde, as contribuições propostas pelos mais diversos profissionais buscavam o aumento do grau de consciência social das classes populares. A educação em saúde buscava ser uma assessoria técnica às demandas e iniciativas populares, bem como um instrumento de dinamização das trocas de conhecimento entre os atores envolvidos.

A participação de profissionais de saúde nas experiências de educação popular trouxe para o setor saúde uma cultura de relação com as classes populares que representou uma ruptura com a tradição autoritária e normatizadora da educação em saúde.

Começaram a surgir trabalhos que analisavam o conhecimento e os comportamentos das pessoas frente à esquistossomose, dentre os quais podemos citar Coutinho & Pimont (1981), que após o processo educacional observaram discrepância na população entre 'o que se sabe' e 'o que se faz'. Os autores enfatizam a "importância de se estabelecer, através dos processos educativos, uma comunicação participante" (Schall, 1989). Nesse sentido, Carmo (1987) propõe ao educador que "*pergunte e ouça* para desenvolver *junto*, ações criativas, em que o seu saber científico se una ao saber vivencial da população, em busca de soluções alternativas" (grifo da autora).

Trabalhos circunscritos, oriundos de pesquisas, despontavam na década de 1980, buscando a comunicação participante. Um deles (Schall et al., 1987) foi motivado pela observação da ausência, em escolas de área endêmica, de informações relativas à esquistossomose. Trabalhando em conjunto com professores e alunos, os pesquisadores desenvolveram um material educativo paradidático, associando ciência e literatura, a partir do contexto de vida das crianças. O livro foi trabalhado nas escolas, sendo transformado pelos professores e alunos até em uma versão final utilizada em uma região considerada foco da doença no Rio de Janeiro. Com o estudo, percebeu-se que, em sala de aula, a história infantil propicia a construção coletiva de conhecimento, estimulando reflexões sobre os aspectos socioeconômicos e comportamentais envolvidos na transmissão de uma doença como a esquistossomose (Figuras 9 e 10). Essa iniciativa de construir conhecimento de forma coletiva nas escolas, levando em conta as concepções prévias dos alunos e o contexto em que vivem, tomava por base as propostas da pedagogia crítica de Paulo Freire (1994) e a vertente inaugurada por Monteiro Lobato no Brasil, de associar conhecimento à literatura infantil (Schall, 2005).

Figura 9 – Imagem de capa do material experimental *O Feitiço da Lagoa*, 1987

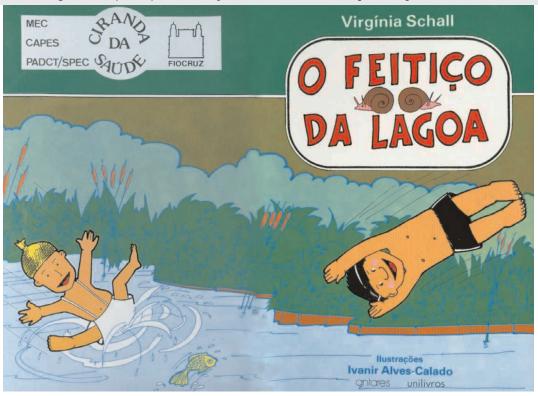



Figura 10 – Imagem de capa da primeira edição do livro infantil *O Feitiço da Lagoa*

Outras pesquisas e atividades de combate a várias endemias, com caráter socioeducativo e participação da comunidade, eram iniciadas por diversas equipes nas diferentes regiões do país. Um exemplo bem-sucedido, em relação à doença de Chagas, foi preconizado por Dias (1998) e relatado a Schall (2001). Outro exemplo foi o trabalho envolvendo a comunidade em Taquaraçu de Minas (MG), uma área endêmica para esquistossomose, iniciado por Coura-Filho (1998) em 1985.

O fato mais importante da década em relação à saúde foi o movimento sanitário progressista, alimentado por intelectuais e políticos, que culminou na VIII Conferência Nacional de Saúde, em 1986. Sua convocação foi orientada para se "obter subsídios visando a contribuir para a reformulação do Sistema Nacional de Saúde e proporcionar elementos para debate na futura Constituinte" (VIII CNS, 1986). Por este motivo, na proposta da Conferência, diferentemente das anteriores, além dos profissionais e dos prestadores de serviços de saúde e dos quadros técnicos e burocráticos do setor, incluíram-se os 'usuários' (Escorel, 1999).

O grande evento político do governo José Sarney foi a convocação de uma Assembléia Constituinte, que debateu e votou a nova Carta Constitucional Brasileira, promulgada em 1988. A Carta Magna passou a garantir saúde como um direito de todos e um dever do Estado, tendo os usuários acesso igualitário e universal às ações de promoção, prevenção e recuperação da saúde. As instituições privadas tinham sua participação de forma a complementar os serviços do Sistema Único de Saúde (SUS). Seus princípios básicos estavam configurados na descentralização, com delegação de poderes para os níveis estatal e municipal, tendo o atendimento integral um maior enfoque nas atividades preventivas (Ipea-PNUD, 1996).

Em 1990, o Programa de Controle da Esquistossomose passa a ser dirigido pela Fundação Nacional de Saúde (Funasa), que se originou, nesse ano, da fusão da Sucam com outros órgãos de saúde pública. Contudo, não houve preparação de competências nos níveis estaduais e municipais para realizar uma transição de modelo sem ruptura das ações ou descontinuidade, o que gerou situações de agravamento de alguns problemas de saúde ainda mal gerenciados, dentre eles o próprio controle da esquistossomose.

Momento conturbado viveu o país com a eleição de Fernando Collor de Mello para presidente. Em meio a um clima de turbulência política e econômica, tornaram-se freqüentes as denúncias de corrupção envolvendo o Planalto, acarretando a mobilização de todo o país pelo *impeachment* de Collor. Em tais circunstâncias, mais uma vez a saúde da população, entre outros aspectos, foi esquecida. Nos governos do presidente Fernando Henrique Cardoso, afora as incertezas econômicas e políticas, manteve-se o tradicional quadro social, com insignificantes melhorias localizadas. Segundo dados do Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (Ipea-PNUD), aproximadamente metade da população brasileira era constituída por pobres, com uma parcela bastante significativa vivendo na indigência, com renda inferior a US$ 1,00 por dia. Tais dados constatavam a persistência dos indicadores de um *apartheid* social, expresso nos níveis de renda, de instrução, de emprego, de propriedade e de acesso a serviços de saneamento, fazendo do Brasil um dos países com pior distribuição de renda do mundo (Ipea-PNUD, 1996).

Uma nova onda da educação em saúde se explicitou em 1989, ao se incorporar ao Projeto Nordeste II o financiamento, pelo Banco Mundial, de US$ 20 milhões, para as ações de Informação, Educação e Comunicação (IEC) (Levy et al., 2002). Ao mesmo tempo em que se fazia evidente que os métodos e meios de educação em saúde tradicionalmente utilizados não mais demonstravam eficiência, aprofundava-se o fosso do desentendimento entre seus defensores e aqueles que propugnavam a adoção da transmissão do conhecimento com auxílio dos modernos meios e técnicas de comunicação de massa.

Sobre as discussões entre os partidários da ação direta da educação em saúde – a que privilegia a influência do contato humano e considera a outra apenas propaganda – e os partidários da ação indireta – que se utiliza em grande escala dos meios de comunicação de massa –, Levy et al. (2002) consideram que perderam todos: o ministério da Saúde porque restringiu a área da educação a um serviço na Fundação Nacional de Saúde, sem estrutura administrativa, sem propaganda e sem pessoal técnico; os programas do ministério, porque deixaram de contar com setor especializado para suporte de suas atividades; a população, porque deixou de receber importantes insumos para conhecer, entender e modificar sua condição de saúde.

A extinção, sem substituição, da Divisão Nacional de Educação em Saúde do ministério da Saúde (secretaria de Ações Básicas), em 1990, e a inexistência de um órgão nacional normativo também se associam à dispersão das ações de educação em saúde apresentadas no diagnóstico citado.

Por outro lado, em paralelo a esta avaliação, o Conselho Nacional de Saúde (CNS, 1993), em sua resolução n. 41 de 3 de março de 1993, reafirmou que “deve ser a Educação para a Saúde considerada estratégia imprescindível para a promoção da saúde, prevenção das doenças e para a consolidação do SUS, nos níveis federal, estadual e municipal”. Esta resolução do CNS, referendada pelo ministério da Saúde no Documento Final da Proposta de Reforma Administrativa (Grupo Executivo para a Reforma Administrativa, 1993), considerava a educação em saúde como um dos “espaços de intervenção estratégica para a política de saúde” ou, em outras palavras, uma “área que perpassa toda a estrutura organizacional dos serviços, articulando-se com a informação, a comunicação e a epidemiologia, corroborando-se em estratégia básica para a consolidação do Sistema”. Já a norma operacional básica (NOB 01/96) para o

Sistema Único de Saúde aprovada pela Comissão Intergestores Tripartite em 4 de julho de 1996 dizia: "Ações de comunicação e de educação compõem, também, obrigatória e permanentemente, os campos de atenção à saúde, distinguindo-se por sua interpenetrabilidade no conjunto das atividades de assistência, intervenções ambientais e políticas extra-setoriais" (SUS, 1996).

Essa mobilização em torno da consolidação do SUS, a necessidade de difusão de idéias e de princípios como a descentralização e a participação da comunidade, o direito à saúde e à informação, exigia o aporte de metodologias próprias de educação em saúde. Tais metodologias deviam ser capazes de viabilizar a concretização destas necessidades e a sensibilização para o compromisso com novas práticas de participação e controle social.

Como parte desse processo e em função dos novos desafios, representantes de organizações nacionais e internacionais, organizações não governamentais, instituições de formação e de prestação de serviços na área da educação em saúde ressaltavam, em diversas oportunidades, a urgência de redirecionar a formação de recursos humanos.

Num momento caracterizado como de transição, as ações de educação em saúde relativas ao controle e prevenção da esquistossomose passaram a ser iniciativas de instituições isoladas ou com pouca participação do governo, como as ONGs. Observou-se que os programas e pesquisas eram desenvolvidos, sobretudo, por biólogos, médicos e epidemiologistas, dentre outros, e poucas vezes compartilhados por profissionais da educação.

Ações e Pesquisas sobre Educação em Saúde Relacionadas à Esquistossomose a partir dos Anos 90

Nestes últimos anos, reiterando a constatação de que a manutenção da prevalência da esquistossomose não se deve apenas à presença dos caramujos e à transmissão por pessoas doentes, mas sobretudo às condições de vida, associadas aos hábitos, costumes e tradições das populações, que favorecem sua disseminação, é enfatizada a necessidade de se refletir sobre os aspectos psicossociais envolvidos e de se estabelecer medidas educativas que possam auxiliar no controle da doença.

Datam desse período (anos 80) os trabalhos de Coura-Filho (1998), um deles em Taquaraçu de Minas (MG), uma área endêmica para esquistossomose, entre os anos de 1985 e 1995. O autor contou com a participação popular e as ações de controle: tratamento seletivo, saneamento e educação popular, além de fornecimento de água potável.

Vasconcelos (1997), trabalhando em um centro de saúde da periferia de Belo Horizonte, entre os anos de 1994 e 1997, propunha como objetivo contribuir na explicitação, de forma mais clara, da metodologia de educação popular em saúde e analisar o seu significado no combate às doenças infecciosas e parasitárias. O autor demonstrou, dentre outras conclusões, que a preocupação não era a quantidade de visitas, a porcentagem de curas, o número de atividades computadas, o índice de incorporação de hábitos de higiene ensinados ou a freqüência com que ensinamentos sobre o ciclo da doença foram apreendidos. O que faz a diferença, na realidade, é o fortalecimento da capacidade daquelas famílias em lutar e buscar a saúde de seus membros.

No espaço escolar, os trabalhos de Gomes dos Santos et al. (1993) e de Schall et al. (1993) constataram que tanto professores quanto alunos não identificavam a esquistossomose e outras helmintoses com prevalência expressiva em sua realidade local. Tais agravos não estavam incluídos no currículo escolar,

e de pouca ou nenhuma informação eles dispunham. O trabalho educativo da equipe, envolvendo a participação da comunidade escolar e dos familiares dos alunos, resultou em aumento do conhecimento e menor prevalência das helmintoses intestinais e da esquistossomose. Considerando-se o fato de tais helmintoses serem sabidamente prevalentes nas regiões estudadas, percebeu-se o quão alheia estava a escola em relação aos problemas da realidade de seus alunos.

Favre (1999), trabalhando em área endêmica para esquistossomose em Pernambuco, não conseguiu reduzir os níveis de prevalência da doença somente com o uso da quimioterapia. A autora sugere, entre outras medidas, o controle de moluscos vetores, saneamento ambiental e educação em saúde, porém sem perder de vista que o controle da esquistossomose só pode ser efetivamente alcançado mediante mudanças sociais que propiciem melhores condições de vida para as populações afetadas.

Gazzinelli et al. (1998) realizaram um estudo sobre os aspectos socioculturais da esquistossomose em área endêmica de Minas Gerais, mostrando a necessidade de desenvolvimento de programas de educação baseados na percepção e conhecimento da doença, a fim de modificar o comportamento e o contexto dos envolvidos. Em estudo posterior, Gazzinelli et al. (2002) investigaram a relação entre a educação e a postura dos sujeitos frente à esquistossomose, demonstrando a possibilidade de mudança a partir do conhecimento e reflexão acerca das próprias experiências com os ambientes e com a doença.

Uma análise e uma avaliação de estratégias e materiais educativos voltados para a prevenção da esquistossomose e outras helmintoses foram realizadas por Diniz & Schall (2000), a fim de traçar sugestões e propostas. As autoras desenvolveram critérios para análise de conteúdos e ilustrações presentes nos materiais produzidos e/ou utilizados, a partir dos anos 70, em diversas regiões do país. Os dados permitiram verificar, principalmente, que os materiais eram meramente informativos. Em sua maioria, priorizavam uma forma de atividade pedagógica que se assemelha mais às estratégias de marketing e propaganda característicos de campanhas emergenciais de saúde pública que acabam por se reproduzir ao longo dos anos como cópias umas das outras (Schall & Diniz, 2001).

Assim, nota-se que, naquele período, muitas instituições de saúde e grupos de profissionais buscavam enfrentar o desafio de incorporar ao serviço público a metodologia da educação, mas um difícil dilema se colocava para o próximo século: embora a educação em saúde se caracterize pela riqueza de sua diversidade, ao mesmo tempo ela precisa de uma identidade "para não se tornar um sal que não salga", algo sem perspectiva de transformação e sem utopia (Vasconcelos, 1997).

Em relação à educação em saúde, pode-se ver que, mesmo com a inexistência de um órgão nacional normativo, ações têm sido realizadas nesses últimos anos. A articulação de profissionais da saúde, pesquisadores e lideranças de movimentos sociais que acreditam na centralidade da educação popular como estratégia de construção de uma sociedade mais saudável e participativa, bem como de um sistema de saúde mais democrático e adequado às condições de vida da população tem sido a proposta da Rede de Educação Popular e Saúde (www.redepopsaude.com.br).

Felizmente, já são freqüentes as situações em que os profissionais da medicina trabalham lado a lado com assistentes sociais, psicólogos, sociólogos, antropólogos e pedagogos, desenvolvendo conjuntamente uma abordagem da pessoa sob cuidado que abrange aspectos variados como vínculos familiares e afetivos, condições de trabalho e renda, crenças e valores relacionados com saúde e doença, estilos de vida e de consumo. A convergência de todos esses enfoques força a medicina a realizar um deslocamento em direção ao cotidiano das pessoas. Nesta perspectiva, as pessoas não mais são vistas como pacientes ou

receptores passivos do cuidado médico e sim como agentes cujos valores, hábitos, crenças e conhecimentos devem ser levados em conta na prescrição de cuidados com a saúde.

O DESENVOLVIMENTO DE PROJETOS E AÇÕES EM EDUCAÇÃO DE SAÚDE NO CONTROLE INTEGRADO DA ESQUISTOSSOMOSE: REVISÃO CRÍTICA DE CONCEITOS, PARADIGMAS E MODELOS

Com o progresso da ciência e as mudanças nos padrões de morbidade e mortalidade, bem como o reconhecimento da influência do estilo de vida na causa das doenças e nos padrões de saúde de determinada população, a ênfase no processo biológico da doença, predominante desde o século XIX até meados do século XX, foi sendo alterada. Primeiro, foi substituída pelo foco no comportamento individual, restrito à orientação individualista e estreita, marcada por recomendações de condutas apropriadas e outras a serem evitadas. A esta orientação comportamentalista, seguiu-se a ênfase na produção social da doença, voltando-se as ações para o desenvolvimento da comunidade e mudança social. Assim também o conceito de saúde, primeiramente restrito à idéia de ausência de doença, vai sendo ampliado, até alcançar uma definição holística, como sugerida por Smith (1981). Este conceito ampliado absorve:

- o modelo clínico (saúde como ausência de doença);
- o ecológico (saúde como capacidade de se ajustar adequadamente ao ambiente);
- o holístico, proposto pela Organização Mundial da Saúde (saúde é um estado de completo bem-estar físico, mental e social);
- e, ainda, considera a auto-realização pessoal.

Em virtude de suas reflexões e experiências com a população, Schall (1996) retoma o conceito de Smith e inclui como fundamental o comprometimento com a igualdade social e com a preservação da natureza, condições que afetam diretamente a saúde.

Este conceito ampliado de saúde condiciona uma educação em saúde que contemple todos os aspectos nele incluído, requerendo um programa abrangente, planejado para motivar as pessoas individual e coletivamente. Por sua vez, ao conceito de educação em saúde se sobrepõe o conceito de promoção da saúde como uma definição mais ampla de um processo de capacitar as pessoas a alcançarem a saúde pelas vias da escolha pessoal e da responsabilidade social (OMS, 1986). Este conceito foi ainda mais expandido numa conferência no Canadá (Epp, 1986), caracterizando-se a promoção da saúde como uma combinação da educação em saúde e da defesa da saúde, o que inclui políticas públicas, ambientes apropriados e reorientação dos serviços de saúde para além dos tratamentos clínicos e curativos (Glanz, Lewis & Rimer, 2002). Entretanto, pondera-se que ambas as expressões se sobrepõem, estando intimamente associadas por fundamentos filosóficos e históricos comuns.

Ao se considerar a educação em saúde em programas de controle da esquistossomose, bem como no contexto da escola do ensino fundamental, verifica-se que duas dimensões desta disciplina persistem atualmente. Uma primeira envolve a aprendizagem sobre as doenças, seus efeitos sobre a saúde, como evitá-las e como restabelecer a saúde. A outra tendência inclui os fatores sociais que afetam a saúde, abordando os caminhos pelos quais diferentes estados de saúde e bem-estar são construídos socialmente.

Esta segunda dimensão abrange a participação de toda a população no contexto e no cotidiano do cuidado com a saúde e não apenas as pessoas sob risco de adoecer.

Um manual organizado pela OMS em 1990, intitulado *Health Education in the Control of Schistosomiasis* (WHO, 1990), apresenta a educação em saúde como um dos aspectos dos cuidados primários de saúde, voltado para a promoção e reforço do comportamento saudável, com participação dos indivíduos e comunidades envolvidas e caracteriza tal processo como voluntário e capaz de encorajar as pessoas a tomarem decisões informadas que permitam manter e melhorar a sua saúde. Estabelece, como objetivo da educação em saúde no controle da esquistossomose, auxiliar as pessoas a compreenderem que o seu próprio comportamento é um fator chave na transmissão da doença. Esta orientação já encaminha para a participação da comunidade, em sintonia com a segunda dimensão antes referida e valorizada na experiência dos autores deste capítulo. Entretanto, a par dessa noção ampliada de saúde, observando-se a prática verifica-se que atualmente persistem diversos modelos ou diferentes paradigmas de educação em saúde. Alguns destes modelos serão apresentados a seguir, no sentido de se analisar criticamente a prática ainda predominante na maioria dos programas de controle nas comunidades e nas escolas.

Revisão Crítica de Diferentes Paradigmas da Educação em Saúde

Muitos dos paradigmas propostos na área de educação em saúde estão norteados por uma perspectiva lógico-empiricista, embora sob ênfase de diferentes contextos, como sugerido por McGuire (1983). Isto significa que, dentre as múltiplas teorias aplicáveis à área da saúde, podem existir diferentes hipóteses verdadeiras, cuja veracidade depende do contexto a que se aplicam. Em outros termos, a contextualização determina a teoria que melhor trabalha sob certas condições, ou seja, para cada teoria deve estar explícito em que contexto os resultados previstos irão ocorrer.

Uma teoria que ganha reconhecimento acaba por influenciar o treinamento e socialização dos profissionais, definindo os rumos da prática em um dado campo do saber. Em relação à educação em saúde, diferentes teorias representam diferentes ações de intervenção, determinando uma orientação ora individual, ora de grupo ou comunitária, por exemplo.

Glanz, Lewis & Rimer (2002) apresentam uma ampla revisão em que discutem as teorias, a pesquisa e a prática da educação em saúde associadas ao comportamento relativo à saúde. Estes autores apresentam alguns modelos que têm sido desenvolvidos ao longo do tempo, os quais incluem os aspectos psicológicos, sociais e estruturais associados à saúde. Como afirmam, a teoria e os modelos informam a pesquisa e a prática e essas retroalimentam a teoria, podendo contribuir para a maturidade desse campo ainda em construção. Assim, apresentam alguns modelos focalizados no comportamento do indivíduo, outros no comportamento interpessoal e, por último, os de enfoque grupal ou comunitário. Também French & Adams (1986) se aproximam da classificação de Glanz, Lewis & Rimer (2002), situando três amplos paradigmas aplicáveis à educação em saúde:

- o modelo de mudança de comportamento, pelo qual a saúde é alcançada em decorrência do comportamento das pessoas;
- o modelo de 'empoderamento' (*empowering education model*), segundo o qual o alcance da saúde se dá pelo desenvolvimento da habilidade das pessoas de compreender e controlar seu estado de saúde dentro das circunstâncias possíveis do ambiente;

- o modelo de ação social ou coletiva, pelo qual a saúde é alcançada por intermédio da mudança de fatores ambientais, sociais e econômicos gerados pela ação e envolvimento da comunidade.

Além destes, é importante considerar o desenvolvimento de modelos mais recentes, como os referidos por Homans & Aggleton (1988), um de orientação comunitária e outro que denominam de socialmente transformador, o mais abrangente deles e cuja eficácia tem sido demonstrada em programas de prevenção da Aids.

No Brasil, como já comentado, a educação popular em saúde, baseada nas idéias de Paulo Freire, pode ser interpretada como um modelo socialmente transformador, e tem crescido de forma expressiva nas últimas décadas, correspondendo hoje a uma ampla rede (Rede de Educação Popular em Saúde), com atuações as mais diversas em todo o território nacional.

Uma revisão de Kloos (1995) relativa ao papel da educação em saúde e do comportamento humano no controle da esquistossomose considera alguns dos modelos anteriormente referidos e inclui outros, os quais também serão referidos em paralelo à caracterização apresentada a seguir.

Modelo de Mudança de Comportamento

O modelo de mudança de comportamento trata-se de um paradigma fundamentado em uma teoria não crítica, centrado no que o especialista acha que o cliente deve fazer, sugerindo medidas de prevenção dentro de uma concepção biomédica da saúde e da doença. A prevenção pode se dar em três níveis:

- primária: encoraja o comportamento de promoção da saúde na população em geral, dando prioridade à informação para evitar o adoecer;
- secundária: estimula a detecção precoce e o tratamento da doença e promove informações de como a saúde pode ser restabelecida;
- terciária: dirige-se mais diretamente às pessoas que têm doenças crônicas ou terminais, buscando maximizar o seu potencial para viver.

A prevenção primária, baseada no modelo de mudança de comportamento, é uma estratégia utilizada pelos governos, usando, para isso, recursos de comunicação de massa como folhetos, televisão, pôsteres e jornais. No caso da esquistossomose, como referido na parte histórica deste capítulo, alguns programas nacionais de controle incluíram tais recursos de comunicação de massa, os quais resultaram em baixa efetividade e até mesmo em processos de dissonância cognitiva (VIII CNS, 1986). Com uma abordagem antropológica, Uchôa et al. (2000) desvendaram a ineficácia deste pretenso saber construído sobre a doença conforme a ótica dos programas governamentais. Os autores revelaram a baixa aplicabilidade deste conhecimento para a transformação do comportamento, em uma realidade socioeconômica limitada, onde a própria sobrevivência da população requer a manutenção de hábitos e de comportamentos que obrigam ao contato com a água, como lavar roupa, pescar, retirar areia etc. Alguns dos materiais apresentados ao final deste capítulo, analisados por Schall & Diniz (2001), ilustram os riscos deste tipo de estratégia, caracterizados pela possibilidade de a informação ser distorcida ou não ser traduzida nas mudanças de comportamento almejadas, como também produzirem confusões e ansiedade desnecessárias. As avaliações deste tipo de intervenção apontam que estratégias que privilegiam o contato pessoal podem apresentar maior efetividade.

Um dos modelos referidos por Kloss (1995) que se insere na perspectiva da mudança de comportamento é o *health belief model* (ou 'modelo de crença em saúde'). O autor aponta as suas limitações, caracterizadas pela ênfase biomédica e individualista, sendo pouco aplicável à realidade dos países em desenvolvimento. Como comenta, considerar o contexto (físico, econômico, social e cultural), na perspectiva dos cuidados primários da saúde, em lugar de considerar apenas o comportamento individual, e promover o conhecimento, não apenas dos sintomas, mas das causas da doença, é a abordagem que se requer para uma educação em saúde comprometida com os princípios da declaração de Alma Ata (Conferência Internacional sobre Cuidados Primários de Saúde, Alma-Ata, URSS, 6-12 de setembro de 1978, organizada pela OMS).

Kloos (1995) também apresenta o *social marketing model* ('modelo de marketing social'), exemplificando o mesmo com um programa de controle da esquistossomose utilizado pelo ministério da Saúde do Egito. Neste exemplo, planejou-se um programa nacional de informação que utilizava a televisão, em face do crescimento dos meios de comunicação de massa a partir de 1960. Contudo, embora o marketing social tenha sido considerado uma inovação na educação em saúde com o advento da TV nas décadas passadas, apresenta limitações e distorções ao considerar mais a tecnologia do que a construção social da saúde. No caso referido pelo autor, as avaliações demonstraram aumento de busca de tratamento e do uso dos medicamentos para tratar a doença, como resultado dos programas de TV, mas não mudança de comportamento que potencializasse a prevenção do risco de transmissão. Além disso, os meios tecnológicos nem sempre alcançam as populações de áreas rurais afetadas com alta prevalência de esquistossomose, em regiões onde a doença não é percebida como importante pelas comunidades.

Modelo de 'Empoderamento' (*Empowering Education Model*)

O modelo de empoderamento encoraja o uso de aprendizagem participativa, já que a saúde implica uma informação inserida no contexto do cotidiano das pessoas, permitindo que os medos e as ansiedades sejam discutidos e resolvidos quando possível. Sua proposta está em acordo com a orientação humanista da educação a qual tem como concepção central a idéia defendida por Carl Rogers (1971) de que "o homem é arquiteto de si mesmo".

Homans & Agletton (1988) definem o empoderamento como um processo pelo qual as pessoas desenvolvem habilidades, compreensão e consciência sobre uma dada questão, o que as leva a agir baseadas em uma escolha racional, ultrapassando as motivações afetivas ou impulsivas, o condicionamento externo e a manipulação da mídia. Assim, este modelo enfatiza o uso de recursos pessoais para maximizar as próprias chances de manter uma vida saudável. É considerado mais bem-sucedido do que o modelo antes descrito, porque o aprendiz é ativamente encorajado a participar no programa de aprendizagem, a explorar os seus próprios valores e crenças e a desenvolver uma compreensão dos fatores sociais que afetam as suas escolhas e de sua posição na sociedade. Contudo, os autores discutem que este conceito de empoderamento é, por vezes, problemático. Alguns consideram que se tem ou não se tem tal capacidade, outros admitem que seja um recurso que pode ser desenvolvido. Além disso, surgem questionamentos quanto a aspectos estruturais como raça, gênero, classe, idade, que podem significar limites na autonomia do indivíduo ou de grupos, limites estes causados por pressões sociais que se impõem, impedindo o empoderamento. Desta forma, recomenda-se que o empoderamento seja um primeiro estágio do trabalho educativo. Trata-se de uma abordagem que auxilia as pessoas a se tornarem mais confiantes em si

mesmas, a qual deve ser seguida por processos de decisão e ação que afetam o dia-a-dia das pessoas, ampliando a sua participação social em questões relacionadas à saúde e à doença.

Trata-se aqui de um modelo ainda centrado no indivíduo e dependente de um processo educativo quase tutorial, de difícil aplicabilidade na realidade brasileira, sobretudo com as grandes populações de áreas endêmicas. Contudo, ao conceito de empoderamento individual associou-se o de empoderamento coletivo, voltado para a comunidade.

Kloos (1995) inclui a descrição deste modelo e enquadra os trabalhos de Schall et al. (1987) e Schall (1988) nesta perspectiva, associando-os à proposta educativa de Paulo Freire. Contudo, embora nos trabalhos dos autores referidos a educação em saúde, inserida no contexto escolar, deva estar comprometida com o desenvolvimento e fortalecimento da formação de uma consciência de cidadania (que pode ser traduzida como empoderamento pessoal), está também compromissada com ações mais amplas de transformação social (envolvendo as famílias e comunidades no entorno das escolas). No todo, tal proposta de educação em saúde pressupõe uma conjugação dos modelos de empoderamento individual e coletivo que encaminha para uma transformação social.

Modelo de Planejamento 'Precede-Procede'

Trata-se o 'Precede-Procede' de um modelo que começou a ser concebido por Green et al. (1980) nos anos 1970, primeiro focalizado nos fatores predisponentes associados à saúde, cujo conhecimento é necessário para o planejamento de um diagnóstico educacional/ambiental (Precede). Mais tarde, Green & Kreuter (1999) adicionaram àquele conceito inicialmente proposto os fatores conseqüentes necessários ao desenvolvimento de um plano educacional/ambiental (Procede). A palavra Precede é um acrônimo que inclui os fatores predisponentes, capacitadores e reforçadores associados à avaliação e ao diagnóstico educacional/ambiental (Gielen & McDonald, 2002). Já a palavra Procede significa: políticas públicas, regulação e organização para o desenvolvimento educacional e ambiental. Este modelo busca resolver algumas questões perenes como a ausência ou dificuldade de diagnóstico prévio dos comportamentos de risco e a ausência de avaliação na área de educação em saúde. O diagnóstico deve ser realizado a partir do conhecimento da comunidade e as atividades educativas devem ser planejadas a partir desta etapa. De acordo com a classificação de Green (Gielen & McDonald, 2002), os conhecimentos, atitudes e crenças são considerados como fatores predisponentes que podem possibilitar a mudança de comportamento. Características do ambiente e da educação que influem nesta possível aquisição de novos conhecimentos, atitudes e crenças capazes de motivar comportamentos desejáveis são consideradas fatores de capacitação. São fatores reforçadores aqueles que promovem incentivos, recompensas ou punição, influenciando a habilidade do aprendiz para manter um comportamento adquirido.

Kloss (1995) descreve o modelo Precede em relação à esquistossomose e o elege como adequado para o desenvolvimento de programas em países em desenvolvimento, onde é necessária uma etapa ampla de diagnóstico para identificar os problemas sociais e locais de saúde de modo a planejar as intervenções de forma compartilhada. Considera o modelo muito apropriado para as áreas endêmicas de esquistossomose, pois leva em conta não apenas o conhecimento da comunidade local que condiciona determinados comportamentos, mas permite monitorar as intervenções e o processo de avaliação. Refere-se inclusive a um trabalho realizado na Nigéria, com escolares, usando o modelo, onde se observou decréscimo de contato com córregos locais e, portanto, menor exposição à doença.

Kloos (1995) desenvolve uma análise de comportamentos relacionados à esquistossomose inseridos no modelo de 'fatores predisponentes' e apresenta algumas categorias que adicionam novas dimensões ao modelo. Ele reitera o valor do modelo ao partir de dados originais obtidos no campo, junto às comunidades, e não de fontes secundárias, antes do planejamento das intervenções. Cita suas experiências no Egito, Etiópia e Quênia, como exemplos bem-sucedidos daquela abordagem. De acordo com o autor, o modelo inclui aspectos individuais, comunitários e permite incorporar fatores regionais e nacionais e o contexto socioeconômico relacionado a cada comportamento. Esta compreensão pode dar lugar ao desenvolvimento de estratégias de controle mais efetivas. Uma apresentação ampla e discutida do modelo incluindo as fases 'Precede' e 'Procede' foi realizada por Gielen & McDonald (2002) e permite maior aprofundamento em sua compreensão, análise crítica e possível aplicabilidade.

Modelo de Orientação Comunitária

O modelo de orientação comunitária questiona a noção de que o indivíduo é responsável pela sua própria saúde e sugere que as pessoas devem identificar e agir coletivamente sobre o ambiente e fatores da comunidade que afetam a sua saúde. Distinguem-se dois tipos de orientação, neste modelo:

- a escolha da estratégia é do educador (de cima para baixo). Neste caso, caracteriza-se como limite se o que este considera importante coincide ou não com o que as pessoas envolvidas pensam, bem como os administradores dos serviços de saúde e/ou de educação;
- a iniciativa se fundamenta na visão do grupo organizado em torno de uma questão particular de saúde. O sucesso destas iniciativas está na correta identificação das necessidades relacionadas à própria saúde do grupo e no planejamento de programas que vão ao encontro das mesmas. Um programa de controle da esquistossomose de orientação comunitária foi desenvolvido por Coura-Filho em 1998, no município de Taquaraçu de Minas, Minas Gerais, entre os anos de 1985 e 1995. O autor contou com a participação popular e ações de controle: tratamento seletivo, saneamento e educação popular, além de fornecimento de água potável. A prevalência da infecção apresentou-se sete vezes menor, passando de 30,9% para 4,3% e a intensidade da infecção também sofreu significativa redução, passando de 91,2 para 30,7 no período estudado. Aqui, a iniciativa do pesquisador conjugada com a forte participação popular levou a um controle progressivo da doença e sustentabilidade das ações por cerca de dez anos.

Modelo de Transformação Social

Descrito por Homans & Aggleton (1988) em relação ao controle da Aids, o modelo de transformação social surge da crítica aos modelos anteriores, vistos como tradicionais e limitados e, portanto, incapazes de enfrentar as desigualdades sociais que limitam as oportunidades para formas de vida mais saudáveis. Considerando as demandas específicas da Aids (doença que motivou a aplicação do modelo pelos autores), a qual envolve minorias (mulheres, velhos, deficientes, homossexuais, dentre outros), o paradigma de transformação social tem o potencial de cuidar da saúde e do bem-estar individual associado à mudança social por intermédio dos movimentos coletivos organizados.

Os autores apresentam quatro aspectos próprios desse modelo que os educadores comprometidos com a transformação social necessitam considerar, o que envolve desde a reestruturação no plano das

idéias, desmistificando o conhecimento médico; no plano das relações sociais, conclamando os educadores a participarem pessoalmente, promovendo mudanças no próprio comportamento e influenciando os colegas, amigos, vizinhos e família; nos processos políticos, devendo os educadores estar comprometidos com a transformação social, participando de movimentos e gerando novas idéias para uma educação mais eficiente; na alocação de recursos, cuja luta para obtenção deve ser compartilhada tanto por educadores quanto pelos educandos.

Constata-se na prática que as ações de educação em saúde, consciente ou inconscientemente, tendem a privilegiar um ou outro modelo. Portanto, é de grande importância que tanto professores e profissionais de saúde, bem como a população compreendam estas abordagens com base nos seus princípios fundamentais para assumirem uma postura crítica e construtiva em relação às formas de organização e participação nos programas de promoção da saúde e de educação em saúde nos mais diversos ambientes.

Se tomada isoladamente, a abordagem comportamentalista leva a ações pontuais em que o condicionamento, como gerador do comportamento, seria sua prioridade. Muito embora estas mudanças sejam necessárias, esta abordagem apresenta sérias limitações, pois não leva em consideração aspectos socioculturais e afetivos dos sujeitos envolvidos no processo educativo, além de desprezar o potencial dos indivíduos de construírem o conhecimento necessário e participarem ativamente para que estas mudanças de comportamento ocorram.

Na abordagem humanista, ao contrário, a ênfase no fortalecimento do 'eu' leva a uma perspectiva fundamentalmente subjetiva, individualista e afetiva do processo. Muito embora a afetividade perpasse e impregne todo o conhecimento, nesta abordagem o elemento afetivo fica restrito, pois é deslocado da análise do contexto onde é gerado e dos aspectos socioculturais que o influenciam. Uma abordagem que privilegie o diálogo e o conhecimento mútuo de valores, experiências e afetos pode indicar um caminho mais sólido para as mudanças necessárias, de modo que coloque o homem situado e contextualizado no centro do processo de transformação, incluindo aí os aspectos afetivos e as informações e fatos necessários à tomada de decisões.

Entretanto, ao pensar a educação em saúde, um ponto crucial a ser destacado está nos limites do conhecimento em termos de gerar mudança de comportamento. Aqui está o grande desafio da tarefa educativa. Como afirma Rosenstock (1990), "*o conhecimento é importante, às vezes, essencial, para a mudança de comportamento, embora raramente suficiente*" (grifo nosso). A mera aquisição de saber não é suficiente para engendrar atitudes e ações, em cuja esfera se encontra de fato o objetivo da iniciativa educacional, principalmente na área da saúde. Um relatório recente da OMS (2004) conclama os pesquisadores a incluírem em sua agenda estudos que possam auxiliar na diminuição da distância entre o que se sabe e o que se faz (*know-do gap*), ou seja, traduzir o conhecimento com base em evidências na área da saúde em intervenções efetivas, sejam tecnológicas, clínicas, informativas ou educativas. Tais perspectivas requerem maior investimento em pesquisas aplicadas na área da educação em saúde e experimentação de novas alternativas.

Sugerir integrar o que se sabe ao que se faz pode parecer simples e óbvio, mas é bastante mais complexo do que se pode prever. Requer novas atitudes e uma mudança multidimensional, no sentido apontado por Fullan (1991) ao discutir o conceito de inovação educacional para o caso do ensino formal que pode ser também aplicada aos serviços de saúde. Este autor aponta três aspectos críticos fundamentais para que um novo programa educacional atinja seu objetivo, como:

- utilizar adequadamente novas tecnologias ou materiais educativos;
- aplicar novas abordagens ou estratégias de ensino como, por exemplo, relacionar conteúdos de modo interdisciplinar, enfatizando a participação do aluno e a construção do saber pela experiência;
- alterar crenças (por exemplo, questionar o papel diretivo e autoritário do professor/profissional da saúde, estimulando posturas mais democráticas), o que requer uma mudança de orientação e funcionamento das escolas/serviços de saúde e uma mudança na filosofia norteadora. Nesse sentido, integrar os aspectos afetivos requer uma reestruturação muito mais profunda na escola (o que pode ser também associado aos serviços de saúde), que passa pelas relações de poder (relacionamento mais democrático entre corpo docente e discente). Passa também pela atitude do professor na sala de aula (respeito e consideração à singularidade dos alunos e para com si próprio), o que se fundamenta numa nova visão do aluno (cada um sendo considerado como único e respeitado em sua individualidade). Considera também os objetivos do processo educativo (educação não apenas para aquisição de habilidades, mas para a vida, de modo a construir relações mais afetivas, valorização de si, respeito aos outros e responsabilidade social e ecológica), assim como a revalorização do professor em relação a sua prática, o que está associado a melhor estrutura material da escola e salários dignos.

Contudo, a educação tem falhado sistematicamente ao não contemplar tais aspectos no processo de construção do conhecimento, centrado quase exclusivamente nos aspectos cognitivos, priorizando o acúmulo de saber, a memorização, sem a necessária contextualização e envolvimento pessoal do indivíduo. Todas as reflexões ora mencionadas, relativas ao processo educativo nas escolas, merecem ser consideradas ao se pensar nos programas integrados de controle, nos quais a educação em saúde deve ter o seu papel assegurado.

Abordagens Antropológicas no Estudo das Representações sobre Saúde e Doença e sua Relevância para a Educação em Saúde

Outra área de estudos relevante quanto à representação de saúde e doença é a antropologia médica, a qual tem ampliado a compreensão das idéias sobre saúde e doença. Tal enfoque redimensiona os estudos centrados nos fatores biológicos, demonstrando como tais noções são construídas e interpretadas culturalmente, sendo fenômenos multidimensionais, como apontam Uchôa & Vidal (1994), inspirados em Geertz (1973). Aqueles autores referem-se ao trabalho pioneiro de Kleinman (1980) e Good & Delvecchio Good (1980, 1982), os quais "fornecem os elementos-chave de um quadro teórico e metodológico para análise dos fatores culturais que intervêm no campo da saúde" (Uchôa & Vidal, 1994). Como descrevem, Kleinman parte da perspectiva de que os comportamentos de cuidado em saúde são respostas socialmente organizadas em relação à experiência subjetiva da doença, podendo ser estudados como um sistema cultural (*health care system*). Assim, Kleinman (1980) desenvolveu o 'modelo explicativo' (*explanatory model*), que permite analisar sistematicamente valores, crenças e normas de conduta presentes no campo da saúde. Este modelo é valioso para identificar os possíveis problemas de comunicação entre as explicações de diversas pessoas sobre saúde/doença e os modelos explicativos médicos, podendo facilitar ações clínicas, educativas e de pesquisa. Por sua vez, Good & Delvecchio Good (1980, 1982) desenvolveram o modelo de análise de redes semânticas (*semantic network analysis*). Este modelo permite compreender

os diferentes fatores presentes na construção das diversas 'realidades médicas' e as redes de significações dos episódios patológicos, "por meio das quais elementos cognitivos, afetivos e experienciais se articulam sobre o universo das relações sociais e das configurações culturais" (Uchôa & Vidal, 1994).

Estas análises abrem caminho para se entender os processos culturais que mediatizam a construção das representações e comportamentos em saúde. Prosseguindo na linha de estudo dos processos de saúde e doença sob o foco cultural, Corin et al. (1989, 1990, 1992a, 1992b) e Corin, Bibeau & Uchôa elaboraram o modelo de análise dos 'sistemas de signo, significados e ações' que possibilita sistematizar os diferentes elementos do contexto, como: dinâmica social, códigos culturais centrais, conceito de pessoa etc., permitindo compreender sistematicamente as maneiras de pensar e agir de populações junto às quais se quer intervir, como por exemplo na escolha de tratamentos ou em um programa de saúde. Esta metodologia, empregada primeiro na área da saúde mental, vem sendo utilizada nos estudos das grandes endemias, como relatam Uchôa & Vidal (1994). Como modelo de análise, permite conhecer as lógicas conceituais que organizam o campo das representações culturais e os elementos do contexto como experiência pessoal, fatores ambientais, hábitos culturais etc., que influenciam a tradução dessas representações em comportamentos (de risco ou de proteção), em relação aos serviços disponíveis de saúde. Este modelo permite um refinamento de análise, potencializando estudos valiosos da prática da educação em saúde na escola/comunidade, de modo a se compreender o impacto específico de diferentes elementos do contexto pessoal de cada pessoa sobre a construção de suas noções, valores e comportamentos relativos à saúde e ao ambiente.

Por sua vez, como discutem Uchôa & Vidal (1994), as noções de saúde e doença, embora aparentemente simples, revelam fenômenos complexos que incluem fatores biológicos, sociológicos, econômicos, ambientais e culturais, os quais transparecem nos múltiplos discursos e diferentes práticas de intervenção e pesquisa sobre a saúde. Esses autores demonstram a importância dos estudos sob a ótica da antropologia médica, que vêm complementar a epidemiologia e a sociologia da saúde, ao considerar aspectos da saúde como: conhecimento do risco, idéias sobre prevenção, noções sobre causalidade etc. como fenômenos culturalmente construídos e culturalmente interpretados. Como argumentam: "A perspectiva qualitativa é empregada para identificar e analisar a mediação que exercem os fatores sociais e culturais na construção de formas características de pensar e agir frente à saúde e a doença" (Uchôa & Vidal, 1994).

Neste sentido, os autores advogam pela complementaridade dos métodos qualitativos e quantitativos no campo das ciências sociais, por meio de abordagens multi e transdisciplinares nas pesquisas da área da saúde, observando-se um enriquecimento advindo da conjugação das duas perspectivas. As estratégias qualitativas possibilitam identificar variáveis relevantes e formular hipóteses culturalmente apropriadas. As quantitativas, por amostragem representativa da população estudada, permitem testar as hipóteses formuladas, podendo tais recortes metodológicos se apresentarem como fases seqüenciais de um mesmo estudo.

Os estudos que priorizam abordagens quantitativas, realizados por critérios de amostragem representativa da população estudada, são úteis para indicar tendências gerais, como, no caso da esquistossomose, as crenças das populações, em relação à doença, que interferem na noção de causalidade, transmissão e tratamento. Todavia, não possibilitam estabelecer relações destas noções gerais com a experiência singular, o autoconceito e o contexto sociocultural das pessoas, o que pode ser mais relevante para o processo de constituição do conhecimento. Assim, a abordagem qualitativa permite investigar mais especificamente aspectos singulares das pessoas de cada comunidade, de modo a fundamentar

ações educativas que permitam estimular o desenvolvimento de atitudes, valores e comportamentos de prevenção a doenças e preservação da saúde e do ambiente. Possibilita, ainda, análises de algumas tendências gerais, que conduzem a outras hipóteses, podendo vir a sugerir estudos complementares, numa retroalimentação entre as abordagens qualitativa e quantitativa.

Em relação à esquistossomose, Kloos (1995) apresenta, em seu artigo de revisão sobre a educação em saúde, alguns estudos antropológicos. Em um deles, realizado numa área rural da Malásia, a percepção da severidade da doença e possibilidade de controle da infecção estava correlacionada com a adesão das pessoas aos procedimentos de controle e prevenção recomendados. Já nas Filipinas, as pessoas com menor conhecimento sobre a doença apresentavam mais medo da mesma e aderiam melhor ao tratamento. Comunidades rurais de Camarões atribuíam a hematúria conseqüente à esquistossomose hematóbica à exposição exagerada ao sol ou às relações sexuais, levando muitas das pessoas a não procurarem tratamento nas clínicas locais. Também na Nigéria, no estado de Enugu, acreditava-se que a transmissão de *Schistomosa haematobium* se daria através de relações sexuais. Assim, as mulheres tinham medo de procurar tratamento, com receio que seus maridos descobrissem e as evitassem. No trabalho de Schall & Diniz (2001), muitas pessoas relataram o uso de remédios caseiros como capazes de curar a esquistossomose, deixando de buscar tratamento médico. Esses são exemplos que denotam a importância dos estudos etnográficos para compreender as percepções e crenças das populações de áreas endêmicas e melhor planejar as ações de educação em saúde.

Participação Popular e Controle da Esquistossomose: perspectivas de uma educação em saúde fortalecedora do exercício de cidadania

Considerando-se as características da esquistossomose no Brasil, a importância da participação comunitária (PC) precisa ser ressaltada ao se pensar em qualquer programa de educação em saúde. Dadas as limitações de espaço do capítulo, que impõe um vasto conteúdo, aqui se remeterá à revisão de Dias (1998), que analisa os problemas e possibilidades de participação comunitária no controle das grandes endemias no Brasil. Dias estabelece a PC como fundamental em nosso país para a prevenção, consolidação e vigilância do controle das endemias, sobretudo pela alta prevalência das mesmas em populações mais desfavorecidas. Como comenta o autor, apesar dessa racionalidade e pertinência, a PC não tem sido realizada de forma sustentada, ficando como um desafio para ser exercido pelo SUS.

Dias refere-se ao exemplo de Minas Gerais para dar a dimensão das ações estabelecidas pelo Programa de Controle da Esquistossomose (PCE) nos anos 1990. Apresenta a evolução das ações no estado que teria, na época, cerca de 440 municípios endêmicos. Em 1990, o PCE cobria 13 municípios, passando a duzentos em 1995 e alcançando quatrocentos em 1997, de acordo com dados da FNS/MG. O autor ressalta o processo participativo, imprescindível à instalação do PCE no município, envolvendo um diagnóstico prévio dos aspectos epidemiológicos e negociações para alocação de recursos e instalação do programa, em conjunto com o sistema local de saúde, rede de ensino e associações comunitárias. Embora Dias estabeleça a importância do bom funcionamento do SUS e da ampla participação comunitária para que o controle seja efetivo, questões partidárias, descontinuidade de compromissos e interpretação errônea do que é a verdadeira PC têm gerado recrudescimento da doença em algumas áreas e ausência de controle em outras. E, pondo em evidência as características da transmissão da esquistossomose, dependente do

comportamento humano, como no caso da contaminação das águas com as fezes de portadores de vermes, enfatiza a importância da ação educativa, ao lidar com a realidade imediata e vivida das pessoas. Nesse ponto relembra Freire (1976) e Hollanda (1976), autores cuja ação educativa já foi referida anteriormente no capítulo. Aqui, Dias (1998) reforça o valor da participação comunitária em todas as fases de controle, partindo da "análise das relações de produção, e das relações homem-água, homem-meio, homem-saneamento", de modo a estabelecer um projeto comunitário e político-participativo. Contudo, o autor conclui, após apresentar exemplos de projetos bem-sucedidos, que a participação comunitária ainda está muito aquém das potencialidades da comunidade. Para isso, considera a visão limitada e imediatista dos programas de saúde governamentais, que reduzem a PC a um complemento para obter a cooperação da comunidade, uma forma de colaborar sob o controle dos planejadores, o que se distancia da verdadeira participação popular, que visa ao envolvimento da população na definição das políticas de saúde e no desenvolvimento das ações de controle, de modo a alcançar sustentabilidade e autonomia no gerenciamento da saúde. Nesse ponto a educação em saúde é uma estratégia com grande potencial de estimular a verdadeira participação comunitária, estabelecendo os elos entre os diversos níveis da comunidade, o decisório (governantes), o executivo (profissionais da saúde, professores, pesquisadores, líderes de comunidade) e o participativo (a população). Tal perspectiva é apresentada por Schall (1998), com experiências relativas à esquistossomose. Também Barbosa (1996) relata a sua experiência bem-sucedida, que inclui a participação popular na esfera municipal e local. A autora situa a importância da representatividade da comunidade nas comissões municipais de saúde como instância legítima para o desenvolvimento dos processos de elaboração, execução e avaliação das ações de controle de endemias. E ressalta o papel da educação em saúde,

> entendida enquanto processo de aquisição de conhecimento para uma ação transformadora, tanto da parte dos técnicos em saúde como dos membros da comunidade. Diversas formas de repartir o conhecimento podem ser utilizadas respeitando-se as bases culturais locais. Daí a importância da participação dos grupos sociais para a construção dos elementos culturais (representações sobre a esquistossomose), que irão subsidiar e dar coerência às estratégias de controle (Barbosa, 1996).

Para além do controle das endemias, a participação tem papel fundamental no processo de descentralização, essencial para a democratização da ação do Estado e fortalecimento da cidadania. Uma análise das ambigüidades e limites das práticas participativas é encaminhada por Jacobi (2000), os quais devem estar presentes na reflexão dos educadores que se dedicam ao campo da saúde. Outra preocupação que deve fazer parte do campo do educador está nas estratégias de estímulo à verdadeira participação popular e respectivo processo de controle e transformação social requerido pela ação educativa. O campo da intervenção psicossocial traz contribuições importantes para a ação educativa em saúde que estimula práticas participativas. Afonso (2002) apresenta a fundamentação teórica e exemplos de oficinas enquanto práticas de intervenção psicossocial, que podem ser focalizadas em torno de uma questão central e determinado contexto social. As oficinas caracterizam-se como alternativas de trabalhos coletivos determinados pelas práticas histórico-sociais, podendo auxiliar o desenvolvimento da autonomia dos participantes por intermédio de uma prática dialógica e a construção compartilhada de conhecimento pelo grupo, estimulando reflexões, criatividade e podendo até mesmo encaminhar processos de transformação, objetivo dos mais requeridos pela educação em saúde comprometida com a democracia, eqüidade e qualidade de vida.

EDUCAÇÃO EM SAÚDE NO CONTEXTO ESCOLAR: BASES TEÓRICAS, EXPERIÊNCIAS ANTERIORES E EXEMPLO DE UM PROJETO INTEGRADO

Experiência Anterior e Bases Teóricas

Há mais de vinte anos o trabalho desenvolvido pelo Laboratório de Educação em Saúde e Ambiente (Leas), no Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz, Rio de Janeiro) e pelo Laboratório de Educação em Saúde (Labes), no Centro de Pesquisa René Rachou (CPqRR/Fiocruz, Minas Gerais) tem sido focalizado na educação de crianças e jovens, em parceria com as escolas da rede pública de ensino, com a colaboração dos professores e participação das famílias dos alunos. Como trabalho orientado para a prevenção de doenças e promoção da saúde, o objetivo é estimular a construção de conhecimentos desde a infância, época fundamental para sedimentar um saber que possa ser traduzido em atitudes e comportamentos. Enfatiza-se o comportamento individual, por intermédio de ações que levam a evitar situações de risco e a proteger a saúde, assim como o envolvimento coletivo, incentivando a participação ativa em movimentos para a melhoria geral da qualidade de vida. Além disso, como sugerem Valla & Mello (1986), "a escola pode ser um lugar onde todo mundo discute saúde, pois há muitas oportunidades de se reunir os alunos, os professores, os pais e os moradores".

Esse trabalho tem por orientação:

- a perspectiva da ciência cognitiva, orientada para a formação dos conceitos dos alunos, focalizando aspectos psicológicos do desenvolvimento cognitivo em interação com os afetivos, sob um enfoque sócio-histórico;
- a atenção às relações escola/família/sociedade, discutindo aspectos relativos à reprodução e à transformação socioculturais, focalizando a influência do modelo social, da situação econômica, da estrutura familiar, do enfoque pedagógico e do tipo de escola, sobretudo em relação à saúde;
- a proposição de novas estratégias metodológicas a serem experimentadas, utilizando recursos lúdicos (Schall, 2005) e embasadas nas análises críticas empreendidas, considerando a escola e o trabalho pedagógico como "lugar de elaboração e investigação da formação social da mente" (Smolka, 1991). Assim, a escola é vista como um espaço onde a expressão e reflexão devem ser garantidas, tendo em vista a sua importância para uma educação em saúde norteada pela valorização da vida.

As bases teóricas desse trabalho estão ancoradas em alguns autores da área da educação, destacando-se Montaigne, que escreveu a sua grande obra, *Ensaios*, entre 1572 e 1588, no século XVI. No capítulo denominado 'Da Educação das Crianças' (Montaigne, 1991), ainda que se possa questionar um idealismo e inadequações ao espírito do nosso tempo, Montaigne (1991) continua adiante de seu tempo em suas recomendações. Condena a educação livresca e memorizadora e fornece indicações concretas de como conduzir um processo de construção de conhecimentos que fortaleça a formação da personalidade e a aquisição de um saber para a vida. Como sugere: "Que o professor ensine aos alunos a apreciar os fatos mais do que os registrar, que os deixe mais desejosos do que saciados" –, caracterizando um ensino que estimula a observação da realidade e a reflexão.

Comentando a obra de Montaigne, Maurice Weiler (1996) questiona a educação do nosso tempo, suas inadequações e finalidades restritivas. Segundo o autor:

> Hoje como ontem, as crianças vergam sob o fardo dos conhecimentos inúteis; na escola ou colégios, elas não têm contatos verdadeiros com o real, a vida. Os professores enterram-se na rotina e na preparação dos exames, e assim absorvidos, deixam subsistir apenas simulações de cultura. A instrução, dada em comum a classes demasiado numerosas e heteróclitas, sufoca a originalidade e só beneficia uma ínfima minoria. Em suma, após anos de labor ingrato, contam-se muitas cabeças cheias e pouco bem-feitas. Tudo porque perdemos de vista o objetivo da educação: formar homens. (Weiler, 1991: 537)

Por sua vez, Freinet, em seu livro *Pedagogia do Bom Senso*, questiona a escolástica e a ciência 'pretensiosa', e o 'conteúdo' do ensino, defendendo que o fundamental está na atitude do professor de 'fazer a criança sentir sede'. Como recomenda: "Entusiasme seus alunos para irem cada vez mais depressa e cada vez mais longe. Basta você prever atividades suficientes – felizmente, há muitas –, para alimentar a necessidade de criar e de realizar" (Freinet, 1991).

Assim também Piaget (2000), em seu livro *Para Onde Vai a Educação*, reafirmou a importância da formação psicológica dos professores, sugerindo que sejam incluídas, na escola, classes de orientação com métodos 'ativos', que privilegiam a participação espontânea do aluno. Isso demanda uma colaboração constante entre professores e psicólogos, requerendo "uma estreita união entre a análise pedagógica e a análise psicológica" (Piaget, 2000). Como assinala:

> Na realidade, a educação constitui um todo indissociável, e não se pode formar personalidades autônomas no domínio moral se por outro lado o indivíduo é submetido a um constrangimento intelectual de tal ordem que tenha de se limitar a aprender por imposição sem descobrir por si mesmo a verdade: se é passivo intelectualmente, não conseguiria ser livre moralmente. Reciprocamente, porém, se a sua moral consiste exclusivamente de uma submissão à autoridade adulta, e se os únicos relacionamentos sociais que constituem a vida da classe são os que ligam cada aluno individualmente a um mestre que detém todos os poderes, ele também não conseguiria ser ativo intelectualmente. (Piaget, 2000: 61)

Piaget enfatiza que os aspectos intelectuais são inseparáveis dos afetivos, sociais e morais. Valoriza a atividade coletiva em sala, que estimula o controle mútuo, o exercício do espírito crítico e da cooperação que conduzam à autonomia e reciprocidade, podendo mesmo levar a uma renovação do ser em uma atmosfera social constituída de afeição e liberdade. O trabalho conjunto entre alunos favorece ainda o desenvolvimento da cooperação e da responsabilidade.

Outra referência importante encontra-se em Vygotsky (1991, 1993), cujos estudos sobre o pensamento e a linguagem, sob a perspectiva sócio-histórica, sublinham a concepção da palavra como mediadora da formação social da mente e da elaboração histórica da consciência. Esta abordagem apresentada por Vygotsky não implica uma periodização do desenvolvimento infantil, tal como proposto por Piaget, mas está baseada em sua lei geral de desenvolvimento cultural, que estabelece dois planos consecutivos no desenvolvimento das funções psicológicas: o plano individual e o plano social, por meio de processos intrapsicológicos e interpsicológicos, respectivamente (Freitas, 1994). A partir desta perspectiva, estabelece a importância do sistema de relações sociais para a constituição de novos conhecimentos pela criança, introduzindo a idéia da 'zona de desenvolvimento proximal', entendida como uma capacidade potencial influenciada pela interação com os outros. Dessa forma, em atividades cuja realização é facilitada por outro, são acionados processos psicológicos que permitem à criança alcançar resultados para além do esperado, ultrapassando os limites colocados pelas teorias que fixam estágios de desenvolvimento, como

a piagetiana. É fundamental o papel da interação com o outro na origem do desenvolvimento psíquico e do pensamento conceitual. A partir desta perspectiva, Vygotsky argumenta que o 'imediatismo' da percepção 'natural' é suplantado por um processo complexo de mediação, tornando-se a linguagem parte essencial do desenvolvimento cognitivo da criança. E por intermédio da linguagem o homem se constrói e se reconstrói, interagindo com sua consciência, com seu passado, sua história de vida e sua história social.

Na mesma linha de Vygotsky, Bakhtin (1985) formula o princípio de dialogia (1929/1981), argumentando que "o nosso pensamento se origina e se forma no processo de interação e luta com pensamentos alheios, o qual não pode deixar de refletir-se na forma da expressão verbal do nosso" (Bakhtin, 1985). Assim, o sentido (incluindo o afetivo) predomina sobre o significado, no processo de desenvolvimento do discurso interior. Para cada indivíduo, as suas experiências particulares no mundo dão sentido às palavras, o que tem sido bem demonstrado por recentes estudos antropológicos. Bakhtin demonstra o processo de apreensão de 'palavras alheias' que se tornam 'palavras próprias alheias', até se tornarem 'palavras próprias', apontando para uma transformação da fala social em 'propriedade privada'. E as palavras, ao tornarem-se privadas, se tornam anônimas, se perdem de sua origem, transitando entre o social e o individual. Assim, a partir das pré-noções trazidas pelos alunos, poder-se-á compartilhar idéias e construir conceitos mais amplos e válidos para a vida das crianças, como sugerido pelo autor, para quem todas as vozes interessam.

Aqui no Brasil, destaca-se o trabalho de Paulo Freire, que experimentou e desenvolveu a pedagogia da libertação, apresentada nos livros *A Pedagogia do Oprimido* (Freire, 1975) e *A Pedagogia da Esperança* (Freire, 1994). Com eles entende-se que alfabetizar é muito mais do que a decodificação do alfabeto, mas um ato político, de que a educação dita 'bancária', pela qual o saber é depositado no aluno, deve ser substituída por uma educação para a vida/educação para a cidadania. Por meio de palavras e temas geradores, o aluno pode ser estimulado a refletir sobre e questionar a sua realidade, tornando-se sujeito ativo na construção do conhecimento. Como sugere Freire: "Quando se compreende a realidade, pode-se desafiá-la e procurar possibilidades de soluções. O homem deve tentar transformar a realidade para ser mais" (Freire, 1975).

A Educação em Saúde na Escola: a importância dos aspectos afetivos

Para além da discussão do conceito de saúde, dos diferentes paradigmas e diferentes abordagens e interpretações relativas à saúde presentes na literatura científica, permanece o desafio da prática da educação em saúde nas escolas. Trabalhar as questões ambientais e de saúde nas salas de aula é um desafio que pode ou não contribuir para a formação de valores de auto-estima e preservação e amor à natureza, como demonstrado por Carson (1962). Requer também se discutir os problemas da desigualdade social, da construção de novas mentalidades que possam tornar possível um projeto de sociedade comprometido com uma melhor distribuição de renda e acesso igualitário à educação, aos serviços de saúde e às oportunidades de lazer. Nesse sentido, a educação em saúde e ambiente não deveria se restringir aos aspectos biológicos e ecológicos, mas incluir reflexões de natureza política, as quais podem se tornar acessíveis às crianças por intermédio da linguagem que melhor entendem: a ficção, em que, assim como no teatro grego, a vida, as emoções e a sociedade sejam contadas ou representadas, como também por atividades práticas que estimulem análise e busca de soluções para problemas vivenciados na comunidade.

A literatura infantil, especialmente, é reconhecida como capaz de auxiliar as crianças a desenvolver seus potenciais, favorecendo uma melhor compreensão de si mesmas, o que é destacado por Cullinan (1989) em sua grande obra: *Literature and the Child*. Segundo a autora, psicólogos cognitivistas evidenciaram que a narrativa é estruturada da mesma forma que a mente está estruturada; "há uma superposição entre o modo como organizamos nossas mentes e a maneira como construímos histórias" (Cullinan, 1989). Assim, muitas histórias infantis tratam de mistérios da condição humana, interpretando a vida, de modo que, geração após geração, elas permanecem despertando a atenção das crianças.

Além disso, cada texto pode ser interpretado ou percebido por diferentes modos, permitindo um encontro do leitor com seus próprios conceitos, caracterizando-se por uma escolha pessoal de significados, de maneira que nenhum leitor poderá exaurir todo o potencial de um mesmo texto. Dessa forma, não há uma leitura 'correta' de um texto, mas apenas leituras mais ou menos completas, em relação ao conteúdo informativo e à possibilidade de criação de significados pessoais.

Essa 'abertura' da obra literária faz dela um instrumento especialmente adequado para explorar a dimensão afetiva na escola, auxiliando nos processos de construção do conhecimento sobre si e sobre a realidade. Muitas vezes a realidade de algumas crianças fica completamente subjugada a um ponto de vista único, influenciado por modelos familiares ou externos que admira, que restringem o espaço de sua vida. No caso da esquistossomose, em alguns países, as crenças religiosas familiares podem estar contrapostas ao desenvolvimento de atitudes preventivas. Um exemplo dado por Farrok & Nallah (1966) revela crenças de famílias no Egito cuja religião recomenda lançar seus dejetos em água corrente e assim, ao fazerem piqueniques ou excursões em áreas rurais, procurarão justamente os cursos d'água para defecarem. Este exemplo demonstra que o predomínio de uma crença com fortes raízes culturais orienta o modo de pensar das pessoas, as suas atitudes e ações, opção esta que pode estar sob a influência da religião. Neste caso, observa-se a predominância marcante e exclusiva de valores da família e da comunidade que precisam ser considerados para que o trabalho educativo não gere dissonância cognitiva ou possa ser completamente rejeitado. A escola pode contribuir, ao discutir com as crianças sobre tais questões, mas é preciso saber respeitar as suas opiniões, as quais não vão mudar de um momento para o outro; o importante é que reflitam sobre elas e passem à condição de indivíduos mais conscientes e críticos. Isso requer do professor atenção para não induzir modelos pessoais, buscando sempre a prática reflexiva.

A abordagem da ciência para crianças por intermédio da literatura infantil foi experimentada no Brasil por Monteiro Lobato (Nunes, 1986), com grande sucesso. Por esse caminho, Schall et al. (1987) iniciaram um trabalho relacionado à esquistossomose, com o livro *O Feitiço da Lagoa* (Schall, 1986), que abriu uma nova linha de pesquisa, e a criação de muitos outros materiais educativos relacionados a temas de saúde.

Mas não basta ter em mãos bons textos ou quaisquer outros recursos, pois a formação do educador é fundamental. Para esta, muito tem a contribuir a psicanálise, possibilitando maior compreensão do mundo inconsciente, o qual pode ser mais determinante para o desenvolvimento da criança do que a própria ação educacional programada, como afirmam Millot & Reitman (1992). Além disso, a psicanálise contribui para a educação ao explicitar a gênese da internalização do valor do processo de construção do conhecimento a partir do envolvimento emocional com o professor, como argumenta Ekstein (1968). Assim, a criança que entra na escola trabalha primeiro por amor, identifica-se com o professor idealizado

e seu modo de ensinar e, desta forma, aprende a amar a tarefa escolar, mediante um processo de internalização. Quanto mais se identificar com o professor, e quanto mais este amar o próprio trabalho, mais facilmente o aluno passará do 'trabalhar pelo amor' (pois, a princípio, seu objetivo é ser amado pelo professor) para o 'amor pelo trabalho'. Entretanto, como demonstra Goleman (1995), os educadores, sempre aflitos para que os alunos alcancem bons escores em matemática e leitura, estão percebendo que existe uma deficiência ainda mais alarmante quanto à afetividade e às relações humanas, ainda não contempladas nos currículos escolares. Assim, apresenta algumas experiências inovadoras, desenvolvidas nos Estados Unidos, que exemplificam possibilidades de integrar os aspectos afetivos nas escolas. A maioria delas visa à prevenção da violência e da Aids, como, por exemplo, um programa denominado *Social Competence Program*, desenvolvido em uma escola de New Haven, área de mais alta prevalência de Aids entre mulheres nos EUA, que vem apresentando resultados positivos.

Uma avaliação de um programa de prevenção à esquistossomose (Schall et al., 1993; Massara & Schall, 2004) busca aliar o cognitivo e o afetivo, e contempla parcialmente a proposta aqui apresentada, indicando resultados promissores. Nesses programas, os professores recebem previamente cursos e oficinas, sendo utilizados histórias infantis e jogos como nos projetos aqui referidos (Freire, 1994; Schall et al., 1993; *O Cruzeiro*, 1962). Alguns recursos produtivos incluem a formação de alunos mediadores, que participam intervindo junto aos professores, nas classes, participando das atividades, as quais não ficam circunscritas à escola, mas incluem as famílias e as comunidades. Como afirma Goleman (1995), o que se busca não é apenas que a criança desenvolva habilidades emocionais e sociais, mas uma educação que alcance a formação do caráter, do desenvolvimento moral e da cidadania.

Relato de uma Experiência: etapas fundamentais de um projeto integrado

A experiência doravante descrita faz parte de um projeto amplo de desenvolvimento de estratégias e materiais educativos, que visa estimular as escolas a criar programas integrados de saúde partindo de temas geradores, ou seja, aqueles com significado para a comunidade. Nesse trabalho, desenvolvido em Jaboticatubas, cidade da região metropolitana de Belo Horizonte, capital de Minas Gerais, o tema escolhido foi esquistossomose (a descrição detalhada do processo pode ser encontrado em Massara & Schall, 2004). A escolha baseou-se na expressiva e histórica prevalência desta doença no município, que chegou a ser conhecido como capital da esquistossomose desde a década de 1960, em divulgação pela mídia nacional (*O Cruzeiro*, 1962). Além disso, trata-se de uma doença que tem sido transmitida de maneira silenciosa pela migração de pessoas em busca de trabalho (agricultura de subsistência em sítios e pequenas fazendas) e pela crescente rede de turismo rural na região, requerendo ações efetivas de controle (Enk et al., 2004). A estratégia desenvolvida incluiu quatro escolas, cujos professores, alunos e familiares participaram conjuntamente do processo. Enfatiza-se uma abordagem problematizadora, que focaliza as questões de saúde como temas que podem mobilizar a comunidade escolar e despertar a população para um trabalho que integra ambiente, saúde e cidadania.

A Perspectiva da Escola Promotora de Saúde

A escola e a comunidade são espaços estratégicos para o sucesso da promoção da saúde e contribuem para o controle de doenças. Os professores e alunos são agentes ativos para a introdução de novos

conceitos na comunidade, pelo fato de serem seus membros permanentes. As crianças, especialmente por estarem em fase de desenvolvimento e de formação de conceitos importantes para a sua vida. Segundo Regis et al. (1996), a escola mostrou-se um espaço privilegiado para a obtenção do envolvimento da população do Recife no controle da filariose. O ambiente escolar, pela sua representatividade, oferece condições favoráveis à mudança de atitudes e opções aos indivíduos e à comunidade. Para os pesquisadores, houve muitas facilidades no trabalho, já que o tema pode ser desenvolvido em sala de aula com material didático para diferentes abordagens. Além disso, ele pode ser inserido no conteúdo programático pela oportunidade que se tem de aproximação de um problema existente nas famílias, na escola e no meio social. Todos estes fatores permitem que o tema seja retomado nos anos subseqüentes.

A esquistossomose é uma doença que, em si, é mobilizadora no município, podendo ser trabalhada como um tema gerador nas escolas, na perspectiva do método de Freire (1994). As palavras geradoras favorecem uma educação crítica, estimulando a consciência da cidadania. Assim, a educação em saúde foi incluída nas escolas como mobilizadora de novos conhecimentos, de reflexão política e percepção das possibilidades de transformação necessárias a uma vida de melhor qualidade.

Portanto, a elaboração de um projeto integrado de controle da esquistossomose e de outras verminoses tomou por base o trabalho com escolares e suas famílias e com professores de quatro escolas da localidade de São José de Almeida, município de Jaboticatubas. O projeto foi construído a partir de reuniões com professores, autoridades municipais das áreas de saúde e educação, entrevistas com profissionais municipais das referidas áreas e com os alunos e uma amostra de familiares.

Após a escolha do tema esquistossomose, as etapas do estudo incluíram:

- atualização do diagnóstico da doença entre os professores, alunos e familiares; tratamento dos infectados (Massara et al., 2004);
- investigação dos conhecimentos prévios dos alunos e professores sobre a doença (Diniz, Braga & Schall, 2003);
- curso para os professores;
- acompanhamento, avaliação e supervisão de projetos desenvolvidos pelas escolas para estimular a continuidade e sustentabilidade das ações;
- estímulo à integração do tema a outros relativos à saúde e ao meio ambiente.

Como pré-requisitos para as ações pedagógicas, foram pesquisadas e analisadas as representações sociais, sobre a esquistossomose, de escolares da região (Massara, 2003), e realizados cursos de atualização de professores sobre temas relacionados ao controle dos problemas focalizados e apresentação de novas metodologias (Brandão, 1981). As escolas foram incentivadas, mediante reuniões e encontros com as equipes de supervisão e professores, a desenvolver projetos integrados, os quais permitiram uma abordagem pedagógica de saúde e ambiente como temas transversais, com grande sucesso. Por meio de grupos focais com os professores, foi feito um acompanhamento qualitativo do projeto.

Metodologia e Desenvolvimento do Projeto

O trabalho foi realizado em quatro escolas públicas do município de Jaboticatubas. O projeto incluiu 1.466 alunos e seus familiares, estimando-se uma população de mais de 4.500 pessoas, aproximadamente 35% da população do município.

No início, a equipe de pesquisadores começou um trabalho em parceria com as escolas, percebendo-se uma participação muito promissora. Na primeira fase do projeto, as professoras colaboraram muito com as atividades voltadas para o diagnóstico, sensibilizando os alunos a trazerem material para o exame de fezes, bem como informações para as visitas dos pesquisadores às áreas de campo visando à identificação dos locais de risco de transmissão da doença e coleta de moluscos vetores. Desde essa etapa, a equipe alugou uma casa no distrito e intensificou o relacionamento com as escolas e a comunidade, numa perspectiva da pesquisa participante (Brandão, 1981), o que contribuiu, em muito, para o sucesso do projeto.

Numa segunda etapa, o compromisso de montar projetos sobre saúde em parceria com as escolas foi fortalecido pela realização do curso de educação em saúde para o controle da esquistossomose, ministrado para 33 professores das quatro escolas selecionadas (Massara, 2003).

O curso objetivou informar, construir conhecimentos e estimular esses educadores a atuarem como multiplicadores junto aos seus colegas, aos seus alunos e também a sua comunidade. A discussão sobre pressupostos da educação libertadora (Freire, 1994) foi acompanhada de aulas práticas relacionadas à esquistossomose, sempre abordadas de forma problematizadora. Além de aprenderem noções básicas da doença: ciclo, transmissão, patologia, diagnóstico, tratamento e prevenção, todas as quatro escolas receberam um *kit* de materiais para o trabalho.

O material incluía: fita de vídeo com informações sobre a doença (Rosemberg, 1995); coleção de conchas de moluscos transmissores; livro *O Feitiço da Lagoa*, da coleção Ciranda da Saúde (Schall, 1986); amostras de vermes (*S. mansoni*, *Taenia* sp e *Ascaris lumbricoides*); pinças e luvas. Foi distribuída pasta com o *Manual do Agente de Saúde Pública – Esquistossomose*, e o *Guia Texto – Esquistossomose mansoni*, ambos editados pela Fundação Nacional de Saúde (ministério da Saúde); apostila de coleta de moluscos e identificação de cercárias, elaborada por Massara, Barros & Silva (2002), com colaboração dos Laboratórios de Helmintologia e Malacologia Médica e Educação em Saúde do CPqRR/Fiocruz e duas apostilas sobre água e saúde, a primeira intitulada *Projetos e Ações Integradas – manual para professores, profissionais de saúde e líderes comunitários* e a segunda, *Saber para Prevenir* (Schall, 2002a, 2002b).

Foram realizadas aulas teóricas com especialistas convidados de cada área do conhecimento relativa ao tema e aulas práticas com o objetivo de enriquecer e sedimentar os novos conhecimentos. Como dinâmica foi solicitado aos professores que fizessem perguntas sobre esquistossomose, as quais orientaram os conteúdos, sendo, pois, respondidas no decorrer do curso. Algumas oficinas (Miranda, 1995) permitiram dinamizar as aulas.

O conteúdo específico incluiu, nas aulas expositivas, questões como a chegada e instalação da doença no Brasil, a situação atual no país e o ciclo biológico de *S. mansoni*. Os professores demonstraram muito interesse pelas aulas e relataram suas experiências com a doença ou a de amigos e familiares. Na parte prática, para efeito comparativo, foram apresentadas caixas com moluscos do gênero *Biomphalaria*, transmissores da esquistossomose (Figura 11), e outras com moluscos não transmissores. Foram feitas demonstrações de como os moluscos deviam ser coletados, embalados, etiquetados e remetidos ao laboratório para análise. Também foram examinados com lupa caramujos experimentalmente infectados, sob luz artificial e por esmagamento, para se observar a presença de cercárias; além de outros tipos de cercárias, para comparação quanto a tamanho, bifurcação da cauda e morfologia.

Figura 11 – Apresentação das caixas com moluscos do gênero *Biomphalaria*, transmissores da esquistossomose que podem ser encontrados no ambiente local

Foto: arquivo de imagens do Laboratório de Helmintologia e Malacologia Médica.

Em outras aulas foram ministradas noções de diagnóstico, com ênfase no método quantitativo de Kato-Katz (Katz, Chaves & Pellegrino, 1972), em que cada participante, após coleta de material, teve a oportunidade de realizar seu próprio exame. Lâminas positivas foram montadas e colocadas em microscópios para observação dos ovos de *S. mansoni* e de outros vermes (Figura 12).

Figura 12 – À esquerda: aula prática sobre o método quantitativo de Kato-Katz, em que cada professor participante teve a oportunidade de montar duas lâminas com o seu próprio material. À direita: Alunos observam ovos e larvas de *Schistosoma mansoni* ao microscópio

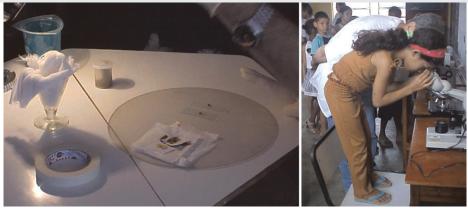



Foto: arquivo de imagens do Laboratório de Helmintologia e Malacologia Médica.

O médico da equipe falou sobre sintomatologia, tratamento, cura e reinfecção. A atividade foi enriquecida por depoimentos dos professores sobre suas vivências com a doença e as de seus familiares, além do tratamento que era feito há anos pela Fundação Nacional de Saúde (FNS).

Apresentou-se aos professores os resultados obtidos com a pesquisa, como: prevalência da doença nos escolares e nas famílias, percentuais de famílias que tinham acesso à rede de esgoto, de água (com uso de filtro), fossa (e sua localização), energia elétrica e destino do lixo; a freqüência e motivos pelos quais as pessoas da área tinham contato com as águas dos córregos e riachos do local; número e localização dos caramujos coletados, com porcentagem de infectados. Estreitou-se parceria, para exames e tratamentos periódicos, entre o posto de saúde e as equipes do Programa de Saúde da Família e os residentes do programa de internato rural da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Ênfase deve ser dada ao processo de descentralização das ações de controle das verminoses para a rede de atenção básica, o que foi demandado pelo projeto.

A pedagoga da equipe também apresentou resultados de sua dissertação de mestrado, desenvolvida na área, sobre a representação social do grupo estudado (Diniz, 2003). As representações dos escolares não estavam ancoradas ao conhecimento internalizado por práticas escolares de educação e saúde, e sim baseadas apenas nas informações que pais e professores tinham 'apreendido' nas campanhas de períodos em que a esquistossomose era ainda um problema muito mais grave do que até então. Tais resultados demonstraram a força da educação informal, aquela que se dá nas interações do dia-a-dia, e o equívoco das metodologias tradicionais de transmissão de informações nas escolas. Mostraram, ainda, a necessidade de trabalhos que enfoquem questões como prevenção, saneamento e o envolvimento de autoridades e da comunidade, além de exemplos bem-sucedidos de controle da doença.

Discutiu-se ainda com os professores em treinamento:

- modelos de projetos integrados em educação em saúde que priorizam, em sua elaboração, partir da realidade dos alunos, permitindo melhor compreensão de demandas e problemas e facilitando a construção participativa de conhecimentos;
- perspectivas de uma educação problematizadora e a importância da esquistossomose como um tema gerador que possa motivar reflexões sobre o seu ambiente, a questão da água, direitos do cidadão e políticas públicas;
- elaboração de projeto de planejamento estratégico para alcançar os objetivos propostos em permanente colaboração, especificamente com os alunos, e com a comunidade em geral;
- necessidade de análise exploratória sobre a esquistossomose na região, com identificação e investigação sobre as formas de transmissão da doença e de sua relação com o meio ambiente e hábitos da população.

Como estratégias foram priorizadas possibilidades de projetos que garantissem o envolvimento dos alunos e a observação de seus hábitos, realização de entrevistas com as famílias, criação de jornal ou revista para a divulgação dos resultados, criação coletiva de histórias próprias da comunidade, organização de feiras de ciências, concurso entre as escolas incluindo os familiares e por fim o estabelecimento de um plano de melhorias sanitárias (Figura 13).

Destacou-se também a necessidade de se efetivar um plano de avaliação do projeto, preferencialmente com o apoio da prefeitura (secretarias de Educação e Saúde), das associações de bairro e das famílias.

Ponto de grande interesse do curso, na parte prática, foi a dissecação de camundongos normais e experimentalmente infectados. Isto possibilitou a comparação entre animais com alterações patológicas

da doença, como as que ocorrem no fígado, e a observação, com auxílio de lupa, da presença de vermes no intestino (Figura 14). Este fato concreto aumentou o grau de percepção dos agravos da doença, reforçando, assim, a atenção para o seu controle, como foi verificado posteriormente nos grupos focais. Tal prática, apresentada em vídeo, pode ser divulgada para numerosas escolas de áreas endêmicas.

Figura 13 – Atividades com professores e alunos na sala de aula e no campo

Foto: arquivo de imagens do Laboratório de Helmintologia e Malacologia Médica.

Figura 14 – Dissecação de camundongos experimentalmente infectados e não infectados

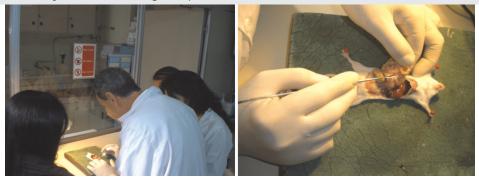



Foto: arquivo de imagens do Laboratório de Helmintologia e Malacologia Médica.

Em relação ao ambiente, abriu-se o campo para discussões sobre o conceito e a situação de saneamento básico no próprio município e no país. Dados sobre a situação do Brasil no ano do projeto (2003/2004) foram apresentados, como a informação de que 98% dos municípios eram atendidos por algum tipo de serviço de abastecimento de água, mas apenas 64% eram abastecidos por rede pública. Menos de 50% dos municípios tinham serviço de esgotamento sanitário, dos quais em 85% dos casos o esgoto era lançado diretamente nos rios e em 80% dos municípios brasileiros os esgotos não eram tratados. Estes dados foram comparados com os do próprio município, gerando assim discussões para busca de soluções adaptadas às condições locais. O debate sobre a relação entre diversas doenças ocasionadas pela falta de saneamento básico foi importante para se fazer repensar propostas, ações e intervenções.

Na parte prática, deu-se ênfase aos diversos tipos de tratamento de esgotos, metodologias do tratamento primário e secundário e construção de diferentes tipos de fossas, seus custos, vantagens e desvantagens.

Por fim, o curso reservou espaço para a definição e elaboração de projetos que foram desenvolvidos pelas escolas, além da identificação dos professores-chave que se responsabilizariam pelo processo em cada escola.

O projeto teve continuidade com grupos focais de professoras e alunos das quatro escolas, de modo a estimular novas propostas pedagógicas e seguimento dos projetos integrados.

Alguns depoimentos das professoras participantes ilustram as possibilidades dessa alternativa de trabalho, como abaixo descrito:

> *Participando do curso reforcei alguns conhecimentos e adquiri novos (e muitos) que desconhecia. Porém precisava continuar estudando sobre o assunto, pois assim terei base maior e melhor, buscando sensibilizar pessoas (alunos, familiares dos alunos, comunidade em geral) quanto da importância do mesmo: transmissão, causas, conseqüências. Não imaginava que o assunto fosse tão interessante. Importante é que ainda estava desconhecido de nós, formadoras de opinião de pessoas, lutando por cidadania* (professora A).

> *Buscarei usar os conhecimentos adquiridos na busca de sensibilização das pessoas quanto à importância do tema em questão. Poderei aplicar estes conhecimentos no campo social onde atuo (família, escola e comunidade escolar; comunidade através da Associação Comunitária, do Projeto Manuelzão, da Conferência São Vicente de Paula), em todos estes buscamos com que as pessoas melhorem suas condições de vida, que tenham boa saúde. Na prática poderei utilizar dos meios: palestras, filmes, visitas técnicas, folhetos informativos, busca de parcerias e outros* (professora C).

Após o curso, os professores desenvolveram diversos projetos com os alunos, que incluíam atividades variadas em sala de aula e também extracurriculares. Uma das professoras expressou as possibilidades de inserir a saúde em todas as matérias curriculares, como conta:

> *Foi possível incluir a saúde em tudo, matemática, português, história, geografia, globalização, ciências, até em ensino religioso desenvolvemos um projeto contendo sobre estas coisas aí, o que deu para trabalhar nós trabalhamos, dentro das palavrinhas que eles iam descobrindo* (professora D).

Um grande evento foi organizado no final da primeira fase do projeto para apresentação dos trabalhos, momento este de participação de famílias. A equipe de coordenação conseguiu fazer um acompanhamento do projeto, por intermédio dos grupos focais. Os professores continuaram a desenvolver diversos projetos, excursões para observação local e intervenções no ambiente, mobilizando a comunidade. Alguns realizaram dias temáticos sobre preservação das águas, coleta seletiva de lixo, entre outros, com passeios pela comunidade, apontando iniciativas compromissadas e participativas.

Em relação à esquistossomose, há relatos interessantes, dos professores e alunos, que apontam para atitudes mais positivas frente a cuidados específicos e a prevenção da doença. Observou-se nos grupos envolvidos maior percepção e compreensão dos riscos da doença, além de uma mudança dos hábitos refletidos na busca de diagnóstico e nos cuidados para evitar a infecção. Os relatos abaixo evidenciam esta mudança:

> *Eu li com a turma um livro de histórias* O Menino do Rio, *aí eu tava lendo e na capinha tinha um menino barrigudo, não falei em xistose hora nenhuma e quando cheguei no meio do capítulo eles me disseram: 'é xistose, é xistose'* (professora N).

> *É bem marcado mesmo, porque esse ano, sem que eu tocasse no assunto, nem nada, não estava nem pensando nessa história, e quando a gente começou a trabalhar o Projeto da Água, aí eu coloquei no quadro assim: Água do Bem; do outro lado, Mal da Água. Aí foi um por um, tinha que ser rápido, uma palavra só, quando chegou no Mal da Água a primeira palavra foi xistose, depois eles montaram um poema, e quase todo o poema da Água do Mal saiu xistose também, quer dizer: esqueceu, não esqueceu* (professora R).

Outro relato de uma das professoras no grupo focal reforça o valor do trabalho desenvolvido:

> *Eu acho assim, nossas condições são precárias, tanto médicas, sanitárias, populações pobres, quanto mais carente mais difícil é para trabalhar. Assim eu acho esse trabalho que estamos desenvolvendo muito bom, sério sabe, traz casos à população, leva a saber o que de maligno tem aquela coisa, muitas pessoas queriam fazer exame, paravam na rua e perguntavam como podiam fazer, sabe* (professora V).

Houve, portanto, maior atenção para os aspectos do ambiente ligados à transmissão, o que levou ao comentário da supervisora de uma das escolas: “Se um trabalho desta natureza tivesse sido iniciado há uns dez anos atrás, talvez hoje a doença estivesse controlada”.

Considerações Finais sobre a Experiência Relatada

Foi possível discutir com os professores as questões estruturais da instalação e permanência da esquistossomose no município de Jaboticatubas, rememorando e representando a construção social dessa endemia em relação às condições de vida da população.

Pôde ser percebida a distribuição desigual dos diferentes grupos de risco, a relação com o processo produtivo e as transformações do ambiente e da sociedade que vêm contribuindo para a manutenção da doença.

O processo de mudança na organização da produção agropecuária de pequenos produtores e a transformação de suas propriedades em áreas de lazer e turismo rural promoveu discussões sobre a necessidade urgente de medidas de controle da doença pelo poder público local, em conjunto com os moradores. Estes aspectos, associados a estímulos de outros projetos que estão acontecendo na região, como o Projeto Manuelzão (UFMG), encaminharam diversas ações pedagógicas, associadas a projetos de ampliação do saber para a comunidade, mobilizando atividades extracurriculares, como caminhadas educativas, visitas aos mananciais da localidade, atenção para a coleta seletiva de lixo e riscos do desmatamento, transcendendo o foco na doença e enfatizando a promoção da saúde.

Considerando os trabalhos antes referidos, só a prática estabelecida com continuidade e devidamente avaliada poderá atestar a sua efetividade, no sentido de contribuir significativamente não apenas para a promoção da saúde, mas para o exercício de uma cidadania plena e responsável, bem como para alcançar condições mais dignas e felizes de vida. Assim, é de suma importância se avaliar criticamente os projetos, programas e serviços dedicados à educação em saúde na escola, bem como se ter clareza quanto ao compromisso com seus objetivos, os quais devem estar afinados “com o respeito pela dignidade e a verdadeira diversidade da experiência humana”, como apropriadamente sugerem Homans & Aggleton (1988), em relação à Aids, o que pode ser generalizado para quaisquer outras questões de saúde.

E, reafirmando questionamentos antes referidos (Schall & Struchiner, 1995; Luckesi, 1995), face à diversidade metodológica que caracteriza a educação e particularmente a educação em saúde, necessário se faz que os novos paradigmas e propostas sejam avaliados em situações reais, por meio de pesquisas que possam se tornar acessíveis aos professores e profissionais da saúde, nas quais sejam incluídos

estudos de custo e benefício, análises multivariadas em diferentes contextos e populações, onde sejam coletados os dados relativos aos processos, ao impacto imediato e conseqüências a longo prazo. Há muito por fazer. Testar o impacto das teorias mais promissoras poderá contribuir para o desenvolvimento da própria teoria, ampliando o seu valor de predição, como também para um avanço na prática, melhorando a efetividade da saúde pública. Como sugerem Glanz, Lewis & Rimer (2002), "o laboratório da educação em saúde é o mundo real e é nele que a teoria necessita ser testada e refinada".

PERSPECTIVAS

Como discutido ao longo do capítulo, a educação em saúde no Brasil é um campo ainda pouco desenvolvido, que se manteve restrito a programas pontuais e iniciativas de alguns poucos grupos de pesquisadores até a década de 1980. De lá para cá, a área vem recebendo maior atenção e hoje, por intermédio da Rede de Educação Popular, percebe-se o grande potencial de crescimento das ações e pesquisas. Este crescimento deve ser consolidado nos próximos anos, requerendo também maior aporte de produção teórica, publicações acessíveis aos profissionais da saúde da rede do SUS, materiais educativos de qualidade e maior investimento na melhoria da formação dos profissionais, mediante maior oferta de bons cursos. Outra necessidade fundamental está na formação de equipes multidisciplinares, que trabalhem de forma integrada, interagindo saberes e práticas entre os profissionais, com a participação ativa das populações envolvidas.

Um dos pontos de maior dificuldade para as ações e pesquisas em educação em saúde está na descontinuidade conseqüente às mudanças políticas que sempre promovem substituição dos quadros profissionais e das ênfases nos problemas, com cada partido ou lideranças enfatizando diferentes questões. Esta dependência da política é um dos pontos que precisa ser equacionado: quanto mais a população tomar em suas mãos a supervisão de seus direitos públicos, aí incluídos os de saúde, maior será a sustentabilidade dos programas. Assim, as ações de educação em saúde devem estar pautadas na participação e envolvimento de pessoas-chave da comunidade, comprometidas com o seu fazer profissional e com a população, que possam garantir a continuidade dos programas.

Para finalizar, a mensagem da professora Hortênsia de Hollanda, em entrevista a Schall (1999), constitui uma síntese dos pressupostos da prática da educação em saúde defendida neste capítulo. Suas reflexões, prática e orientação se mantêm atuais e exemplares:

> *Isto aqui era para um programa de treinamento de agentes locais de saúde e tinha que ter estas noções:*
>
> *Nos trabalhos com comunidade, antes de começar a agir, conhecer é a primeira coisa, começar a ver, olhar... devolver aos moradores do bairro o que foi detectado na etapa anterior. Ver a saúde no contexto geral de vida e não começar logo com problema de saúde. Depois, ter boa comunicação na hora de conversar com as pessoas do bairro. Partir do conhecimento... do conhecimento das pessoas do bairro e não dos seus próprios conhecimentos. Isso era fundamental, porque a regra era partir do seu conhecimento (do professor). Aprender uns com os outros, devolver as perguntas das pessoas do bairro, não tentar dar respostas prontas. Isso era uma coisa que tinha realmente... eles tinham que ser mais participativos... Dar tempo para as pessoas pensarem é importante quando discutir os problemas do bairro, juntar o maior número de pessoas do bairro; o agente não deve se afastar das pessoas do bairro... e fazer conexões a partir dos problemas do dia-a-dia das pessoas do bairro. As melhores formas de conhecer bem os problemas das pessoas são: visita nas casas,*

reuniões do bairro, pesquisa, conversas descontraídas sem perguntas prontas. Não deixar anotações atrapalharem a conversa, procurar fazer trabalhos em grupo, devolver ao bairro a resposta do levantamento do problema, depois tentar resolver juntos os problemas, escolher o que fazer em cada momento. Então é isso... (lições da professora Hortênsia de Hollanda em um curso para agentes de saúde).

Materiais Informativos/Educativos: exemplos que podem estimular projetos e ações educativas

Considerando a iniciativa de alguns pesquisadores e/ou instituições de saúde de desenvolver materiais informativos/educativos associados a projetos e ações voltados ao controle da esquistossomose, decidiu-se apresentar aqui alguns exemplos.

Tais materiais serão apenas apresentados de forma descritiva, sem quaisquer comentários críticos ou adicionais.

É importante ressaltar a necessidade de que os materiais educativos devem levar em conta a diversidade dos ambientes e fatores propícios à transmissão, devendo ser adequados às localidades onde a ação educativa acontece. Quando são desenvolvidos de forma compartilhada, com a participação da população, podem resultar em maior envolvimento do processo educativo.

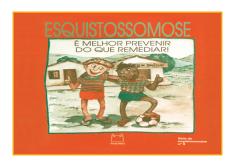
Livros e Cartilhas

1) Título: *O Feitiço da Lagoa* (Schall, 1986)

Autor(es): Virgínia Schall

Editora: Antares, Coleção Ciranda da Saúde MEC/Capes/Padct/SPEC/Fiocruz

Ano de publicação: 1986

Conteúdo: o material educativo foi construído de forma coletiva com alunos de escola de foco isolado da esquistossomose no Rio de Janeiro, de 1983 a 1986. Visa oferecer às crianças noções básicas sobre esquistossomose, motivando e mobilizando sua atenção para situações típicas da vida de uma criança da área, o que estimula identificação com o personagem. Apresenta informações com uma linguagem acessível à compreensão infantil e sugere atividades extracurriculares, no folheto que acompanha o material educativo, para que se estabeleça um processo educativo mais duradouro. O texto em verso conta a história de um menino sadio que adquire a esquistossomose ao entrar em uma lagoa a convite de amigos, o que provoca mudanças em sua vida. Levado ao médico, esclarecido sobre a doença (que pensa ser um feitiço) e curado, retorna à escola, transmite os conhecimentos e propõe divulgação na cidade e reivindicação de melhorias nas condições da lagoa. As ilustrações são claras e apropriadas ao imaginário da criança.

2) Título: *Esquistossomose: é melhor prevenir que remediar* (Gomes dos Santos, 1990)

Autor(es): Marilena Gomes dos Santos

Editora: Fiocruz, Série Esquistossomose n. 2

Ano de publicação: 1990

Conteúdo: a cartilha narra as aventuras de Chico e Zeca, duas crianças nascidas e criadas numa cidade do interior que se encontram a caminho de uma farmácia. Na conversa entre os amigos, noções do ciclo do parasito, da transmissão, da sintomatologia e do tratamento da doença são oferecidas ao leitor numa linguagem de fácil entendimento. As ilustrações são claras e estão desenhadas com base no imaginário da criança.

3) Título: Parte 1 – *O Caminho da Esquistossomose Dentro do Nosso Corpo* (Virgínia Schall, Cristiano Lara Massara, Martin Johannes Enk, Héliton da Silva Barros, Erica da Silva Miranda)

ISBN: 978-95-99016-09-1 – Ano de publicação: 2007

Parte 2 – *O Caminho da Esquistossomose no Meio Ambiente* (Virgínia Schall, Cristiano Lara Massara, Martin Johannes Enk, Héliton da Silva Barros)

ISBN: 978-85-99016-08-4 – Ano de publicação: 2007

1ª. Edição: mil exemplares de cada uma (apoio financeiro: Vice-Presidência de Referência e Meio Ambiente – Fiocruz)

Conteúdo: trata-se de uma abordagem em linguagem simples e com imagens que poderão ser utilizadas pelos profissionais com a população. As escalas das imagens dão as dimensões de aumento, o que deve ser ressaltado com a população para evitar fantasias e distorção da representação dos parasitos e vetores.

4) Teatro de fantoches "*O X da Xistose*" (Cristiano Lara Massara, Graciela Larissa Amaral, Héliton da Silva Barros, Martin Johannes Enk)

Duração: 20 minutos

Esta montagem é uma adaptação livre da obra de Virgínia Schall, *O Feitiço da Lagoa*, feita pela nossa equipe multidisciplinar, com o objetivo de complementar os programas de controle da esquistossomose, potencializando a prevenção de doenças e a promoção da saúde. Numa linguagem simples e cientificamente correta, o texto permite conhecer melhor as relações de transmissão da doença e entender quais os danos causados por ela. Tais abordagens favorecem a construção de conhecimentos científicos corretos e atitudes de prevenção de doenças, bem como o desenvolvimento de pensamento crítico e potencialização da força das ações coletivas, fundamentais para o exercício da cidadania.

Vídeos

1) Título: *Doença do Caramujo* (Rosemberg, 1995)

Autor(es): Brani Rozemberg

Editora: Multimeios/Cict/Fiocruz

Ano do lançamento: 1995

Tempo de duração: 28'04"

Acompanha manual do usuário, com dicas e informações sobre o uso do vídeo, além de debate.

Conteúdo: o vídeo, criado para motivar a discussão em grupo sobre o problema da esquistossomose, é resultado de uma pesquisa sobre a forma como esta doença era compreendida por trabalhadores rurais do município de Conceição do Castelo, Espírito Santo. Na região, a 'doença do caramujo', como é chamada, é um problema freqüente, bem conhecido dos moradores. Os atores deste filme são os próprios moradores, que aceitaram partilhar com o público suas experiências e as descobertas que fizeram ao longo da pesquisa. Propositalmente o filme não traz respostas prontas sobre como resolver o problema da esquistossomose, já que as soluções variam muito de lugar para lugar e devem ser discutidas em grupo, levantando os interesses, as motivações, as dificuldades e os recursos de que o grupo dispõe. O filme, por si só, não completa a proposta almejada. Para que sua utilização faça sentido, a apresentação do vídeo deverá ser seguida de um bom debate. O manual, com dicas e informações para o uso do vídeo, é dirigido aos interessados em motivar moradores de municípios endêmicos a se unirem em busca de soluções locais para o problema da esquistossomose.

CD-ROM

1) Título: *Schistosomiasis* (em inglês) (The Wellcome Trust, 1998)

Autor(es): The Wellcome Trust

Editora: Cabi Publishing

Ano de lançamento: 1998

Conteúdo: o CD é um guia prático e completo para pesquisadores, profissionais da saúde e professores que atuam na pesquisa ou no ensino da esquistossomose. Aborda interativamente todos os tipos de esquistossomose, com fotografias de alta definição de vários aspectos da doença.

Home pages

1) Endereço: www.unifesp.br/dmed/gastro/pee/01.htm

Autora: Patrícia de Jesus Ribeiro

Departamento de Enfermagem – Ambulatório de Esquistossomose

Disciplina de Gastroenterologia

Programa de Educação em Esquistossomose

Universidade Federal de São Paulo

E-mail de contato: patyribeiro@hotmail.com

Conteúdo: os autores apresentam a doença de forma divertida e caricaturada. Os desenhos são bem feitos, mas mostram a realidade com um toque de exagero. Em artigo publicado por Ribeiro et al. (2004), os autores avaliam o programa proposto.

2) Endereço: www.cpqrr.fiocruz.br/labes

Autores: alunos da disciplina de pós-graduação em educação em saúde

Laboratório de educação em saúde

Centro de Pesquisa René Rachou/Fiocruz

E-mail de contato: cecilia@cpqrr.fiocruz.br/massara@cpqrr.fiocruz.br

Conteúdo: página elaborada por alunos de pós-graduação, com atualização anual. A esquistossomose é abordada de forma mais detalhada, direcionada a um público adulto. O tema apresentado é dividido de forma didática em subtítulos: Introdução, História, Aspectos clínicos e epidemiológicos, Aspectos educacionais, Cursos de atualização, Galeria de fotos, Bibliografia sugerida. Possui *links* interessantes para consulta e e-mails para contatos.

3) Endereço: www.who.int/tdr/diseases/schisto/default.htm

Autor: Tropical Disease Research (TDR) – OMS (em inglês)

Conteúdo: de conteúdo mais técnico, esta *home page* aborda algumas informações sobre a doença, o ciclo de vida do parasito e as estratégias de pesquisa para controle da endemia.

REFERÊNCIAS

AFONSO, L. *Oficinas em Dinâmica de Grupo: um método de intervenção psicossocial*. Belo Horizonte: Edições do Campo Social, 2002.

AMARAL, R. S. & PORTO, M. A. S. Evolução e situação atual do controle da esquistossomose no Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 27: 73-90, 1994.

BAKHTIN, M. *Estética de la Creación Verbal*. Buenos Aires: Siglo Veintiuno, 1985.

BARBOSA, C. B.; SILVA, C. B. & BARBOSA, F. N. Esquistossomose: reprodução e expansão da endemia no Estado de Pernambuco no Brasil. *Revista de Sáude Pública*, 30: 609-616, 1996.

BARBOSA, C. C. G. S. *Esquistossomose em Pernambuco: determinantes bio-ecológicos e sócio-culturais em comunidade de pequenos agricultures da Zona da Mata*. Rio de Janeiro: Ensp/Fiocruz, 1996.

BRANDÃO, C. R. (Org.) *Pesquisa Participante*. São Paulo: Brasiliense, 1981.

BRASIL. Decreto-lei 49.974, 21 jan. 1961. Regulamenta a lei 2.312, de 03 set. 1954 e estabelece o Código Nacional de Saúde. Brasília, 1961.

BRASIL. Ministério da Saúde. *O Que é Esquistossomose*. Superintendência de Campanhas de Saúde Pública [s.l./ s.d.].

CÁCERES, F. A crise da República populista. In: CÁCERES, F. *História do Brasil*. São Paulo: Moderna, 1995.

CARSON, R. *Silent Spring*. Nova Iorque: New Yorker Magazine, 1962.

CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE (CNS). Resolução CNS n. 41 de 03/03/93. Brasília: Ministério da Saúde, 1993.

COHN, A. & ELIAS, P. E. *Saúde no Brasil: políticas e organizações de serviços*. São Paulo: Cortez, 1996.

CORIN, E.; BIBEAU, G. & UCHOA, E. Eléments d'une sémiologie antropologique des troubles psychiques chez les Bambara, Bwa et Soninké du Mali. *Anthropologie et Sociétés*, 17: 125-156, 1993.

CORIN, E. et al. *Les Attitudes Dans le Champ de la Santé Mentale, Repères Théoriques et Méthodologiques pour une ètude Ethnographique et Comparative. Rapport Techique*. Montreal: Centre de Recherche de l'Hôpital Douglas, Centre Collaborateur OMS, 1989. (Mimeo.)

CORIN, E. et al. *Comprendre pour Soigner Autrement. Repères pour Règionaliser les Services de Santé Mentale*. Montreal: Presses de l'Université de Montréal, 1990.

CORIN, E. et al. La place de la culture dans la psychiatrie africaine d'aujourd'hui. Paramètres pour un cadre de références. *Psychopathologie Africaine*, 24: 149-181, 1992a.

CORIN, E. et al. Articulation et variations des systèmes de signes, de sens et d'actions. *Psychopathologie Africaine*, 24: 183-204, 1992b.

COURA-FILHO, P. An alternative model for schistosomiasis control with active participation by the population through the unfield Health System (SUS) in Taquaraçu de Minas (Minas Gerais, Brazil) from 1985 to 1995. *Cadernos de Saúde Pública*, 14: 111-122, 1998.

COUTINHO, A. & DOMINGUES, A. L. C. O tratamento específico no controle da morbidade. In: CASTRO, L. P. et al (Orgs.) *Tópicos em Gastroenterologia*. Rio de Janeiro: Medsi, 1991.

COUTINHO, L. M. & PIMONT, R. P. Educação em saúde e comunicação de massa numa experiência concreta no combate à esquistossomose. *Tecnologia Educacional*, 10: 47-52, 1981.

CULLINAN, B. E. *Literature and the Child*. Nova Iorque: Harcourt Brace Jovanovich, 1989.

DIAS, J. C. P. Problemas e possibilidades de participação comunitária no controle das grandes endemias no Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 14: 19-37, 1998.

DIAS, J. C. P. & GARCIA, A. L. R. Vigilância epidemiológica com participação comunitária. *Revista Internacional de Educação em Saúde*, 19: 29-44, 1976.

DINIZ, M. C. P. *As Representações Sociais da Esquistossomose de Escolares de Área Endêmica de Minas Gerais*, 2003. Dissertação de Mestrado, Belo Horizonte: Faculdade de Educação, Universidade Federal de Minas Gerais.

DINIZ, M. C. P. & SCHALL, V. Estudo exploratório sobre estratégias e materiais educativos utilizados na prevenção e controle da esquistossomose e outras helmintoses. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 52, 2000, Brasília. *Anais...* Brasília, 2000.

DINIZ, M. C. P.; BRAGA, R. & SCHALL, V. T. As representações sociais da esquistossomose de escolares de uma área endêmica de Minas Gerais. *Ensaios*, 5: 28-47, 2003.

EKSTEIN, R. The scanning process: from learning for love to love of learning. In: EKSTEIN, R. & MOTTO, R. L. (Eds.) *From Learning for Love to Love of Learning*. New York: Brunner, Mazel, 1968.

ENK, M. J. et al. Rural tourism as risk factor for the transmission of schistosomiasis in Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99: 105-108, 2004.

EPP, L. *Achieving Health for All: a framework for health promotion*. Ottawa: Health and Welfare, 1986.

ESCOREL, S. *Reviravolta na Saúde: origem e articulação do movimento sanitário*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1999.

FARROK, M. & NALLAH, J. The behavioural pattern of social and religious water-contact activities in the Egypt-49 bilharziasis project area. *Bulletin of the World Health Organization*, 35: 377-387, 1966.

FAVRE, T. C. *Impacto da Quimioterapia sobre a Infecção por* Schistosoma mansoni *em Duas Localidades da Zona Litoral-Mata de Pernambuco*, 1999. Tese de Doutorado, Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz.

FONSECA, C. M. O. As propostas do SESP para educação em saúde na década de 50: uma concepção de saúde e sociedade. *Cadernos da Casa de Oswaldo Cruz*, 1: 51-58, 1989.

FREINET, C. *Pedagogia do Bom Senso*. 3. ed. São Paulo: Martins Fonte, 1991.

FREIRE, P. *Ação Cultural para Liberdade e Outros Escritos.* Rio de Janeiro: Paz e Terra, 1976.

FREIRE, P. *Pedagogia do Oprimido*. 2. ed. Rio de Janeiro: Paz e Terra, 1975.

FREIRE, P. *Pedagogia da Esperança: um reencontro com a pedagogia do oprimido*. 3. ed. São Paulo: Paz e Terra, 1994.

FREITAS, M. T. A. *O Pensamento de Vygotsky e Bakhtin no Brasil*. Campinas: Papirus, 1994.

FRENCH, J. & ADAMS, L. From analysis to synthesis. *Health Education Journal*, 45: 71-74, 1986.

FULLAN, C. *The New Meaning of Educational Change*. New York: Teachers College Press, 1991.

GARCIA, A. L. R. Educação sanitária e esquistossomose. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 17: 175-188, 1966.

GAZZINELLI, A. et al. Sociocultural aspects of schistosomiasis mansoni an endemic area in Minas Gerais, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, 14: 841-849, 1998.

GAZZINELLI, M. F. et al. A interdição da doença: uma construção cultural da esquistossomose em área endêmica, Minas Gerais, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 18: 1.629-1.638, 2002.

GEERTZ, C. *The Interpretation of Cultures*. Nova Iorque: Basic Books Inc., 1973.

GIELEN, A. C. & MCDONALD, E. M. Using the PRECEDE-PROCEED planning model to apply health behavior theories. In: GLANZ, K.; RIMER, B. K. & LEWIS, F.M. (Eds.) *Health Behavior and Health Education: theory, research, and practice*. 3. ed. São Francisco: Jossey-Bass Publishers, 2002.

GLANZ, K.; LEWIS, F. M. & RIMER, B. K. *Health Behavior and Health Education: theory, research, and practice*. 3. ed. São Francisco: Jossey-Bass Publishers, 2002.

GOLEMAN, D. *Inteligência Emocional: a teoria revolucionária que redefine o que é ser inteligente*. Rio de Janeiro: Objetiva, 1995.

GOMES DOS SANTOS, M. *Esquistossomose*: *é melhor prevenir do que remediar.* Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, 1990. (Série Esquistossomose, 2)

GOMES DOS SANTOS, M. et al. Conhecimentos, opiniões e prevalência de helmintoses entre professores e alunos de primeiro grau de escolas públicas da periferia de Belo Horizonte. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 35: 573-581, 1993.

GOOD, B. & DELVECCHIO GOOD, M. J. The meaning of symptoms: a cultural hermeneutic model for clinical practice. In: EISENBERG, L. & KLEINMAN, A. *The Relevance of Social Sciences for Medicine*. Dordrechet: Reideil Publishing Co, 1980

GOOD, B. & DELVECCHIO GOOD, M. J. Toward a meaning centered analysis as popular illness categories: 'fright illness' and 'heart distress' in Iran. In: MARSELLA, J. & WHITE, G. *Cultural Conceptions of Mental Health and Therapy*. Dordrechet: Reideil Publishing Co, 1982.

GREEN, L. W. & KREUTER, M. W. *Health Promotion Planning: an education and environmental approach*. 2. ed. Mountain Virw, Calif: Mayfield, 1999.

GREEN, L. W. et al. *Health Education Planning*. Palo Alto: Mayfield, 1980.

HOLLANDA, H. H. Educação sanitária. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, 11: 525-533, 1959.

HOLLANDA, H. H. (Org.). *Saúde Como Compreensão de Vida: um programa de saúde destinado a professores e alunos da 5ª a 8ª série do 1º. Grau*. Convênio MS/DNES-MEC/PREMEM, Belo Horizonte, 1977.

HOMANS, H. & AGGLETON, P. Health education, HIV infection and AIDS. In: AGGLETON, P. & HOMANS, H. *Social Aspects of Aids*. Londres: The Falmer Press, 1988.

INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA APLICADA PROGRAMA DAS NAÇÕES UNIDAS PARA O DESENVOLVIMENTO (IPEA-PNUD). *Relatório sobre o desenvolvimento humano no Brasil*. Rio de Janeiro: Ipea, Pnud/DF, 1996.

JACOBI, P. R. Educação, ampliação da cidadania e participação. *Educação e Pesquisa*, 26: 11-29, 2000.

KATZ, N.; CHAVES, A. & PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique schistosomiasis mansoni. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 14: 397-400, 1972.

KLEINMAN, A. *Patients and Healers in the Context of Cultures: an exploration of borderland between anthropology and psychiatry*. Berkeley: University of California Press, 1980.

KLOETZEL, K. Ciência auto-sustentada: o caso da esquistossomose. *Cadernos de Saúde Pública*, 8: 204-206, 1992.

KLOETZEL, K. & VERGETTI, A. M. A. Repeated mass treatment of schistosomiasis mansoni: experience in hiperendemic areas of Brazil. II Microlevel of results. *Annals of Tropical Medicine and Parasitoly*, 82: 367-376, 1988.

KLOOS, H. Human Behavior, health education and schistosomiasis control: a review. *Social Science & Medicine*, 40: 1.497-1.511, 1995.

LEVY, S. N. et al. Educação em saúde: histórico, conceitos e propostas. In: CONFERÊNCIA NACIONAL DE SAÚDE ON-LINE. Brasília: Ministério da Saúde/Datasus, 2002. Disponível em: <www.datasus.gov.br/cns.htm>. Acesso em: 11 set. 2002.

LUCKESI, C. *A Avaliação da Aprendizagem Escolar*. São Paulo: Cortez, 1995.

CARMO, E. M. Educação em saúde no controle das endemias. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82: 293-294, 1987.

MASSARA, C. L. Curso de educação em saúde para controle da esquistossomose. *Relatório técnico apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde*. Belo Horizonte: Centro de Pesquisas René Rachou/Fiocruz, 2003. Relatório.

MASSARA, C. L. & SCHALL, V. T. A Pedagogical approach of schistosomiasis – an experience in health education in Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99(1): 113-120, 2004.

MASSARA, C. L.; BARROS, H. S. & SILVA, J. G. A. *Coleta de Moluscos e Identificação de Cercarias*. Apostila integrante do 'Curso de capacitação sobre controle integrado de esquistossomose nos municípios'. Belo Horizonte: Centro de Pesquisas René Rachou/Fiocruz, 2002.

MASSARA, C. L. et al. Factors associated with schistosomiasis mansoni in a population from the municipality of Jaboticatubas, State of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99: 127-134, 2004.

MCGUIRE, W. J. A contextualist theory of knowledge: its implications for innovation and reform in psychological research. *Advances in Experimental Social Psychology*, 16: 1-47, 1983.

MELO, J. A. C. Educação Sanitária: uma visão crítica. *Cadernos Cedes*, 4: 28-43, 1987.

MILLOT, C. & REITMAN, A. *Freud Antipedagogo*. Rio de Janeiro: J. Zahar, 1992.

MIRANDA, S. *Oficina de Dinâmica de Grupos*. Campinas: Papirus, 1995.

MONTAIGNE, M. *Ensaios*. Rio de Janeiro: Ediouro/Globo, 1991.

NUNES, C. *Monteiro Lobato Vivo*. Rio de Janeiro: MPM Propaganda/Record, 1986.

O CRUZEIRO. Um caramujo que hospeda a morte. Rio de Janeiro, 24 nov. 1962. p. 99.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE(OMS). Report of the working group on concepts and principles of health promotion. *Health Promotion*, 1: 73-76, 1986.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). World report on knowledge for better health, 2004. Disponível em: <www.who.int/rpc/meetings/en/WR2004AnnotatedOutline.pdf>. Acesso em: jul. 2004.

PELLON, A. B. & TEIXEIRA, I. *Distribuição Geográfica da Esquistossomose Mansônica no Brasil*. Rio de Janeiro: Divisão da Organização Sanitária, 1950.

PIAGET, J. *Para Onde Vai a Educação?* 15. ed. Rio de Janeiro: J.Olympio, 2000.

REGIS, L. et al. Integrated control of the filariasis vector with community participation in an urban area of Recife, Pernambuco, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, 12: 473-482, 1996.

REZENDE, S. C. & HELLER, L. *O Saneamento no Brasil: políticas e interfaces*. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2002.

RIBEIRO, P. J. et al. Programa educativo em esquistossomose: modelo de abordagem metodológica. *Revista de Saúde Pública*, 38: 415-421, 2004.

ROGERS, C. R. *Liberdade para Aprender*. 2. ed. Belo Horizonte: Interlivros, 1971.

ROSEMBERG, B. *Doença do Caramujo*. Fundação Oswaldo Cruz, Multimeios/CICT/Fiocruz, 28 min., color. (Fita de vídeo – VHS), Rio de Janeiro. 1995.

ROSENSTOCK, I. M. The past, present, and future of health education. In: GLANZ, K.; LEWIS, F. M. & RIMER, B. K. *Health Behavior and Health Education*. San Francisco: Jossey-Bass Publishers, 1990.

SCHALL, V. T. *O Feitiço da Lagoa*. Rio de Janeiro: Antares, 1986. (Série Ciranda da Saúde)

SCHALL, V. T. Health education for primary school children: evaluation of a program for instruction and prevention of parasitic diseases. In: INTERNATIONAL CONGRESS FOR TROPICAL MEDICINE AND MALARIA, 20, 1988, London. Abstracts. *Anais...* London: Excerpta Medica, 1988.

SCHALL, V. T. Educação em saúde e esquistossomose: breve retrospectiva e uma proposta. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 84: 84-90, 1989.

SCHALL, V. T. *Saúde e Afetividade na Infância: o que as crianças revelam e sua importância na escola*. Rio de Janeiro: PUC, 1996.

SCHALL, V. T. An interactive perspective of health education for the tropical disease control: the schistosomiasis case. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93: 51-58, 1998.

SCHALL, V. T. Alfabetizando o corpo: o pioneirismo de Hortênsia de Hollanda na educação em saúde. *Cadernos de Saúde Pública*, 15: 149-159, 1999.

SCHALL, V. T. *Contos de Fatos: história de Manguinhos*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2001.

SCHALL, V. T. *Projetos e Ações Integradas: cartilha elaborada para projeto de educação em saúde em áreas irrigadas do Nordeste do Brasil*. Brasília: Ministério da Integração Nacional, Banco Mundial, 2002a.

SCHALL, V. T. *Saber para Prevenir: cartilha elaborada para projeto de educação em saúde em áreas irrigadas do Nordeste do Brasil*. Brasília: Ministério da Integração Nacional, Banco Mundial, 2002b.

SCHALL, V. T. Histórias, jogos e brincadeiras: alternatives lúdicas de divulgação científica para crianças e adolescentes sobre saúde e ambiente. In: MASSARANI, L. (Org.) *O Pequeno Cientista Amador*. Rio de Janeiro: Vieira & Lent Casa Editorial, 2005, v.1.

SCHALL, V. T. & DINIZ, M. C. P. Information and education in schistosomiasis control: na analysis of the situation in the state of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96: 35-43, 2001.

SCHALL, V. T. & STRUCHINER, M. Educação no contexto da epidemia de HIV/AIDS: Teorias e tendências pedagógicas. In: CZERESNIA, D. et al. (Org.) *AIDS: pesquisa social e educação*. São Paulo: Hucitec, Abrasco, 1995

SCHALL, V. T. et al. Educação sanitária para alunos de primeiro grau: Avaliação de um material de ensino e profilaxia da esquistossomose. *Revista de Saúde Pública*, 21: 387-404, 1987.

SCHALL, V. T. et al. Educação em saúde em escolas públicas de primeiro grau da periferia de Belo Horizonte, MG (Brasil). Avaliação de um programa relativo à esquistossomose. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 35: 563-572, 1993.

SECRETARIA DE SAÚDE PÚBLICA. *Esquistossomose.* [s/l.]: Secretaria de Saúde Pública/Seção de Propaganda e Educação Sanitária, 1968.

SERVIÇO NACIONAL DE MALÁRIA. Esquistossomose, 1953.

SILVA, P. Contribuição para o estudo da schistosomiase na Bahia. *Brazil-Médico*, 22: 281-283, 1908.

SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (SUS). Norma Operacional Básica do SUS – 01/96. Ministério da Saúde, texto aprovado pela Comissão Intergestores Tripartite. Brasília, 1996.

SMITH, J. A. The idea of health: a philosophical inquiry. Advances in nursing. *Science*, 3: 43-50, 1981.

SMOLKA, A. L. B. A prática discursiva em sala de aula: Uma perspectiva teórica e um esboço de análise. *Cadernos Cedes*, 24: 51-65, 1991.

THE WELLCOME TRUST. *Topics in International Health*: Schistosomiasis. Cabi Publishing, 1998. (CD-Rom).

UCHÔA, E. & VIDAL, J. M. Antropologia Médica: elementos conceituais e metodológicos para uma abordagem da saúde e da doença. *Cadernos de Saúde Pública*, 10: 497-504, 1994.

UCHÔA, E. et al. The control of schistosomiasis in Brazil: an ethno-epidemiological study of the effectiveness of a community mobilization program for health education. *Social Science & Medicine*, 51: 1.529-1.541, 2000.

VALLA, V. V. & MELLO, J. A. C. Sem educação ou sem dinheiro? In: MINAYO, M. C. S. (Org.) *A Saúde em Estado de Choque*. Rio de Janeiro: Espaço e Tempo, Fase, 1986.

VASCONCELOS, E. M. Educação popular como instrumento de reorientação das estratégias de controle das doenças infecciosas e parasitárias. *Cadernos de Saúde Pública*, 14: 39-57, 1998

VIANNA, R. D. A educação em saúde nas escolas da rede de ensino estadual do estado de São Paulo – 1925-1986. *Rev Bras Saúde Escolar*, 1: 50-57, 1990.

VIII CONFERÊNCIA NACIONAL DE SAÚDE. Regimento. In: PROJETO RADIS/FIOCRUZ. A conferência e sua história: avaliações. *Tema*, 7(5): 120, 1986.

VYGOTSKY, L. S. *A Formação Social da Mente: o desenvolvimento dos processos psicológicos superiores*. São Paulo: Martins Fontes, 1991.

VYGOTSKY, L. S. *Pensamento e Linguagem*. São Paulo: Martins Fontes, 1993.

WARREN, K. S. & NEWILL, V. A. *Schistosomiasis: a bibliography of the World's Literature from 1852 to 1962*. Cleveland: The Press of Western Reserve University, 1967.

WEILER, M. Para conhecer o pensamento de Montaigne. In: MOREAU, P. (Org.) *Montaigne: o homem e a obra*. Rio de Janeiro: Ediouro, Globo, 1991.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Health Education in the Control of Schistosomiasis*. Geneva: WHO, 1990.

ANEXO

Fac-símile do artigo de Pirajá da Silva descrevendo o *Schistosoma mansoni* (agosto, 1908)

Anno XXII | 1 de Agosto de 1908 | Num. 29

Brazil-Medico

SUMMARIO

Trabalhos Originaes: — *Contribuição para o estudo da Schistosomiase na Bahia*, pelo Dr. Pirajá da Silva.

Hygiene Naval: — *A agua a bordo dos navios militares*, pelo Dr. Jaime Silvado.

Clinica Medica: — *Tuberculose pulmonar latente e tuberculose pulmonar attenuada*, pelo Dr. Fernando Bezançon.

Medicina Pratica: — *Injecções in loco de saes de mercurio*, pelo Dr. Emery. *Tratamento da hemoptyse*, pelo Dr. Lannois.

Correspondencia: — *Helminthiase (nematoides)*, pelo Dr. Petrarca de Mesquita.

Boletim Demographico: — *Mortalidade da cidade do Rio de Janeiro*, por B. C.

TRABALHOS ORIGINAES

Contribuição para o estudo da Schistosomiase na Bahia

PELO DR. PIRAJÁ DA SILVA

(Assistente da 1ª cadeira de Clinica Medica)

Entrou em 20 de Abril de 1908, para o serviço da 1ª cadeira de Clinica Medica, o doente de nome A. A., com 18 annos, solteiro, de côr parda, roceiro, natural deste Estado e domiciliado em Santo Antonio, nesta cidade. Examinando o sangue fresco deste doente, encontramos hematozoarios em fórma de crescente e um ovulo que muito se assemelhava ao do *Schistosomum Mansoni*. Por este facto e ainda mais pelo exame completo do doente, fomos levado a fazer a pesquisa das fézes, cujo resultado mais adeante daremos. Pela inspecção notamos descoramento dos tegumentos externos, das conjunctivas e emmagrecimento. A não ser o baço, ligeiramente augmentado de volume, não encontramos nas demais visceras algo digno de menção.

Exame da urina das 24 horas:

Quantidade	1.000 c. c.
Densidade	1.012
Reacção	acida
Materias solidas	27,96
Urobilina	pequena quantidade

Não encontramos elementos anormaes da urina. A urina foi centrifugada, não sendo encontrada em seu deposito cousa alguma que merecesse ser referida.

Exame do sangue:

Hematias	2.732.000
Leucocytos	12.400
Hemoglobina	50 %

Formula leucocytaria:

Polynucleares	46,4 %
Eosinophilos	9 %
Fórmas de transição	10,4 %
Mononucleares	88 %
Lymphocytos grandes	18,2 %
Lymphocytos pequenos	7 %
Mastzellen	0,2 %

O doente, depois que entrou para o hospital, teve ligeiros accessos febris, que não excederam a 38°, apezar de termos encontrado muitos crescentes em preparações feitas com sangue fresco e córado. Tonturas e epistaxis eram os symptomas de que se queixava. Não nos foi possivel examinar o sangue das epistaxis, o que poderia ter grande importancia na molestia de que tratamos. Referiu-nos o doente que, desde algum tempo, as dejecções eram um pouco sanguinolentas, e isto levou-nos a praticar o exame das fézes com mais insistencia e cuidado, afim de vermos si nellas existiam ovos de Schistosomiase, como tivemos occasião de observar, ha quatro annos, em exames das fézes praticados em um doente da clinica de que somos assistente. Pelo exame das fézes encontramos ovulos espiculados lateralmente, com muitos outros de ascaris lumbricoide, trichocephalus, trichiurus, uncinaria duodenalis e anguillula stercoralis. Compulsando alguns tratados de molestias intertropicaes, não encontramos na litteratura da Schistomiase referencia a trabalhos feitos neste sentido no Brazil, nem tão pouco a menção deste paiz na distribuição geographica da referida verminose.

Bilharzia foi o termo empregado outr'ora como nome generico; as regras de nomenclatura, porém, fizeram mudal-o para o de *Schistsomum*, havendo ainda quem use a palavra Bilharzia para designar as especies deste genero. Até bem pouco tempo, presumia-se que a bilharziose humana fosse apenas produzida por duas especies de Schistosomum: *Schistosomum hæmatobium, Schistosomum hæmatobium japonicum* ou Cattoi. São tres, hoje, as especies de Schistosomum conhecidas, podendo atacar o organismo humano: *Schistosomum hæmatobium japonicum* ou Cattoi e *Schistosomum Mansoni*. Este ultimo foi assim classificado por SAMBON (Proceeding of the Zoological Society, 9 th. March 1907) em honra a PATRICK MANSON, que foi quem primeiro suspeitou desta terceira especie.

Nestes termos exprime-se MANSON: «In 1903, in examining a patient, who had long resided in Antigua and other West Indian Islands and who had never visited Africa, I found in his faces numerous schistosomum eggs all bearing a lateral spine. Repeated examination of the unine proved negative, and the patient stated that probably the lateral-spined ova indicated a distinct species of schistosomum, and I suggested this in a previons edition of this manual and elsewhere. Since then a considerable amount of information has accumulated in favour of my conjecture» (*Manual of the diseases of warm climates* — fourt edition).

Diverso deste é o modo de pensar de LOOSS, externado em seu artigo, no magnifico tratado do prof. MENSE (Handbuch der Tropenkraukheiten), sobre a formação de ovulos, com espiculos lateraes. «Nach persönlichen Beobachtung ist das nicht der Fall; die Eier mit Seikenstachel — die übrigens in Form Gräsze sehr stark vanïren und von den Eiern mit Enddorn nicht durch eine scharfe Grenze geschieden sind — sind lediglich Miozbildungen, die ganz konstant im Anfange der geschlechtlichen Tätigkeit-gebildet werden; Bilharz und Mantey fandensie, stets einzeln, in isolierten Weibchen und ich

kann diese Beobachtungen durchans bestätigen; möglicherweise sind geschlechtsreife, aber noch nicht kopuliert Weibchen sogar nur solche Eier zu bilden imstande».

Para explicar a formação do espiculo polar e lateral nos ovos do *Schistosomum*, figura Looss a seguinte hypothese: «Os conductos excretores do ovario e da glandula que produz a casca entram por um canal commum, por detraz do ostyp, depois adeante continúa-se no utero.

Se o ostyp estiver vasio, os ovos que se formarem orientam-se no sentido do eixo, si o utero estiver, como regularmente se dá no começo da puberdade, cheio de ovos abortados e cellulas vitellinas, então o ovo que se fórma, não podendo orientar-se no sentido do seu eixo, tem o orificio situado ao lado, sobre a casca do ovo».

Fritisch acredita que os ovulos com espiculo lateral e polar são provenientes do mesmo verme, dependendo apenas a posição do espiculo do modo pelo qual o utero desemboca na glandula que produz a casca. Nos vermes femeas, que produzem a hematuria, o utero termina no fundo da glandula, terminando lateralmente nos que produzem a pseudo-dysenteria. E', pois, assim o modo de formação do espiculo lateral, que varia de tamanho, segundo a orientação do ovo em sua formação e posição.

Pensamos, como Manson e Sambon, que os ovulos providos de espiculos lateraes pertencem a uma terceira especie de *Schistosomum*, a que muito justamente classificou Sambon de *Schistosomum Mansoni*.

Aqui apresentamos as dimensões por nós tomados em 10 especimens de ovos de *Schistosomum Mansoni*.

Dimensões dos ovos de Schistosomum mansoni e do seu espiculo.

1º—144 μ	(micra)	de	comp.	54 μ	de	largura —	18 μ	comp.	do espiculo
2º—144 μ	»	»	»	51,75	»	»	11,25	»	»
3º—126 μ	»	»	»	49,50	»	»	13,50	»	»
4º—144 μ	»	»	»	72	»	»	18	»	»
5º—162 μ	»	»	»	63	»	»	27	»	»
6º—153 μ	»	»	»	63	»	»	22,50	»	»
7º—153 μ	»	»	»	72	»	»	18	»	»
8º—144 μ	»	»	»	72	»	»	18	»	»
9º—144 μ	»	»	»	71	»	»	18	»	»
10º 153 μ	»	»	»	54	»	»	22	»	»

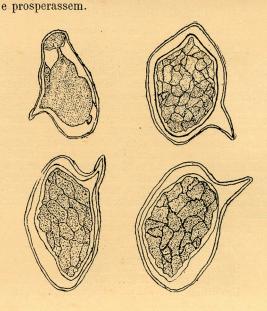
Maximas destas dimensões: comprimento 162, largura 72, comprimeuto do espiculo 27.

Minimas: comprimento 126, largura 49,50, comprimento do espiculo 1,25.

Médias: 146 μ comprimento, 62 largura, 18 comprimento do espiculo.

Os ovos do *Schistosomum mansoni* têm sido encontrados no figado, produzindo uma cirrhose particular. Os ovos do *Schistosomum mansoni* são ovaes e providos de um espiculo lateral; os do *Schistosomum hæmatobium* são mais ou menos ovoides e providos de um espiculo recto terminal; os do *Schistosomum hæmotobium japonicum* são ovoides e desprovidos de espiculo. Quanto ao modo pelo qual é o homem infectado não estão accórdes os scientistas. Geralmente, acredita-se que, sendo os ovos expellidos do organismo humano, vão ter a agua e neste meio é o *miracidium* posto em liberdade. Desconhece-se, porém, até hoje qual seja o hospede intermediario, assim como não são conhecidas as migrações e as transformações deste trematoide.

Diz Looss que por dous modos póde ser infectado o organismo humano: pela agua de beber, neste caso dando-se a penetração pelo estomago e intestinos, e pela pelle. Não é provavel dar-se a penetração pelo estomago, quando sabemos que o animal não resiste a uma solução de acido chlorhydrico a $10^{\circ}/_{\circ\circ}$ por espaço de 1 minuto, nem mesmo a uma solução a $20^{\circ}/_{\circ\circ}$ durante tres minutos. O outro caminho a seguir é a pelle, reproduzindo-se o mesmo que se dá com a larva do *ankyslostomum duodenalis*. E' muito provavel que seja o *Schistosomum Mansoni*, como pensa Manson, uma especie africana, introduzida no Novo Continente, como foi o *Necator* americano, pelos negros da Africa Occidental. A Bahia foi no tempo do trafego dos negros africanos um dos pontos do Brazil para onde se estabeleceu uma grande corrente immigratoria, não sendo assim para admirar que tivessem aportado doentes de schistosomiase e, tendo encontrado aqui os ovos deste verme condições climatericas favoraveis, desenvolvessem e prosperassem.

Fig. 1

Ovos de Schistosomum Mansoni

Desenhado com o auxilio da camara clara por O. Torres. Gabinete de Clinica Medica, 1ª Cadeira.

Depois do primeiro caso de schistosomiase, cuja observação acima mencionamos, tivemos já ensejo de observar mais dous casos, n'um dos quaes, tendo o doente fallecido de outra molestia, praticamos a autopsia e nas ramificações da veia porta encontramos um verme, que, examinado ao microscopio, pareceu-nos ser um especimen femea do *Schistosomum Mansoni*. O referido verme media 13 millimetros de comprimento e 0,364 μ de largura mais ou menos, na parte médiana. Apresentamos desenhos dos ovos e do verme por nós encontrado nas ramificações da veia porta. Estes desenhos fôram feitos, com a camara clara, pelo distincto quinto annista Octavio Torres, interno de Clinica Medica.

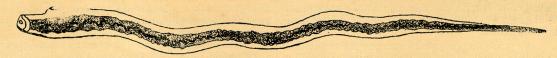



Fig. 2
Femea (?) do Schistosomum encontrado no figado de um cadaver autopsiado, em cujas fézes fóram achados os ovos.

Passando a outro assumpto de pratica, isto é, ao modo de preparação e conservação das preparações de fézes não córadas, encontramos algumas difficuldades em achar um meio que se prestasse a ser usado entre nós. MANSON não indica um meio de se conservar as preparações de fézes e, referindo-se as preparações de SAMBON, diz: «As preparações, tendo sido mal conservadas, SAMBON, não pôde dar as dimensões exactas e a extructura anatomica da nova especie, que muito se assemelha em seu aspecto geral ao *Schistosomum hæmatobium*. Diz GAULTIER, em em seu «Précis de loprologie clinique»: Quant au montage des préparations que l'on désire conserver, il est des plus délicats et donne des résultats inconstants. LYNCH a employé différentes solutions dont il ne recommande aucune et que j'énumére ici d'après lui: eau et glycérine à parties égales; solution épaisse de gomme arabique avec ou sans glycérine au tiers; solution aqueuse de gélatine avec ou sans glycérine; solution d'acide phénique à 1 %, solution de bichlorure de mercure a 1 %.

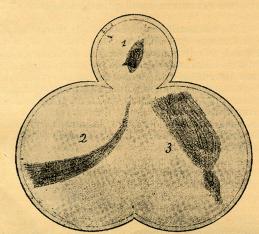



Fig. 3
SCHISTOSOMUM MANSONI
1 — Extremidade cephalica. 2 — Extremidade caudal. 3 - Ovo.

Looss aconselha uma mistura de glycerina e alcool a 70°, nas proporções de 100 de glycerina para 5 de alcool. Affirma o mesmo auctor ter conseguido a conservação das preparações durante um anno. Uma porção deste liquido é ligeiramente aquecida e nella se dissolve uma pequena quantidade das fézes a examinar, as quaes, por sua vez, são préviamente misturadas n'agua.

As preparações são collocadas após algum tempo na estufa a 50°, até que o alcool se evapore pouco a pouco. Ajunta-se um pouco de glycerina pura e, em seguida, fecha-se a preparação. Tambem póde-se empregar a glycerina gelatina, sendo este o modo de usar: tira-se uma particula das fézes a examinar e introduz-se n'uma gotta de glycerina-gelatina, em seguida colloca-se a laminula, aquece-se a lamina e a glycerina gelatina espalha-se regularmente. E' conveniente não fazer as preparações espessas e para isto não se deve tomar muita gelatina.

Evite-se de fazer tambem as preparações muito delgadas, porque os ovos neste caso podem ficar esmagados. As preparações não córadas são mais caracteristicas, podendo-se nellas apreciar os ovos em sua fórma natural e côr, o que é de grande importancia. Temos tambem empregado o lacto-phenol de AMAN, fechando as preparações com a gelatina de MAYER.

Em diversas preparações não conseguimos resultado favoravel com este processo, por se dar logo a coagulação das fézes, na occasião em que se ajunta o lacto-phenol; as preparações perdem a clareza pela formação de diversos grumos. O meio de que temos nos utilisado desde o inicio de nossos estudos, e com algum resultado, tem sido a glycerina misturada com um pouco de solução de formol a 10 %.

BIBLIOGRAPHIA

MAX BRAUN.—*Die Thierischen Parasiten des Menschen.*
CARL MENSE.—*Handbuch der Tropenkrankheiten.*
LEUCKART.—*Die Parasiten des Menschen.*
PATRICK MANSON.—*Lectures on Tropical Diseases.*
PATRICK MANSON.—*Manual of the diseases of warm climates (fourth edition).*
NEVEU-LEMAIRE.—*Parasitologie animale.*
P. VERDUN.—*Précis de Parasitologie humaine.*
LAVERAN ET BLANCHARD.—*Les hematozoaires. Vers du Sang.*
LE DANTEC.—*Précis de Pothologie Exotique.*
GAULTIER.—*Précis de Coprologie Clinique.*
BARD.—*Précis des examens de laboratoire.*

HYGIENE NAVAL

A agua a bordo dos navios militares (*)

PELO DR. JAYME SILVADO

« L'importance d'une eau salubre pour le maintien de la santé des équipages a été mise en relief par l'origine de trop d'épidémies, pour qu'il soit nécessaire d'insister longuement sur ce point. »

FONSSAGRIVES

O viajante moderno, que encontra a bordo dos grandes transatlanticos, e mesmo nos navios militares das grandes potencias, todo o conforto desejavel e mesmo o luxo, certamente não lembra-se de que, antes de chegar ao apogêo, que temos a felici-

(*) Communicação *á Sociedade de Medicina e Cirurgia*, do Rio de Janeiro, em 26 de Maio de 1908.

GLOSSÁRIO

^{3}H-2 desoxiglicose: molécula análoga à glicose que, por não ser degradada metabolicamente pela célula, é útil como traçador, principalmente nos processos de transporte através de membranas biológicas.
Abiótico: meio, lugar ou processo sem organismos vivos; que diz respeito a abiose ou ausência de vida.

ADCC (*antibody-dependent cellular cytotoxicity*): citotoxicidade celular dependente de anticorpo.

Agente biológico ou agente infeccioso: microrganismo (vírus, rickéttsia, bactéria, fungo, protozoário ou helminto) capaz de produzir infecção ou doença infecciosa; agente etiológico vivo, bioagente patogênico.

Alopatria: condição em que os organismos, populações ou espécies ocupam territórios ou áreas geográficas distintas e não comunicantes, levando-os a uma completa separação no espaço e ao isolamento reprodutivo.

Ambientes lóticos: providos de fluxo hídrico.

Amonotélico: descrição de grupos de organismos nos quais a amônia é o principal produto final da degradação de compostos que contêm nitrogênio.

Âncoras GPI: proteínas que se localizam na superfície das membranas biológicas, as quais se fixam através da ligação a uma 'âncora', que consiste em glicosilfosfatidilinositol.

Anidrobiose ou estivação (em Biomphalaria *spp*): estado de dormência prolongada diretamente deflagrado por fatores adversos, como a dessecação do criadouro, podendo ocorrer em qualquer estágio de vida sem haver formação de lamela ou emigração da água.

Animais pecilotermos: animais cuja temperatura do corpo oscila com a temperatura do ambiente.

Antagonismo: quando a má-nutrição impede a proliferação ou o desenvolvimento do agente patógeno.

Antígenos recombinantes: antígenos produzidos em células procariotas ou eucariotas após clonagem do gene correspondente no vetor de expressão apropriado.

AP-PCR: reação em cadeia da polimerase com iniciadores arbitrários, que se baseia na amplificação, sob condições de baixa estringência de anelamento, de regiões anônimas do DNA, utilizando-se iniciadores pequenos (dez bases) com seqüências aleatoriamente selecionadas. Essa técnica permite a obtenção de polimorfismos de DNA amplificados aleatoriamente (Rapd), sem necessidade do conhecimento prévio de seqüências do DNA do organismo em estudo e de iniciadores específicos.

Apresentação clínica da esquistossomose aguda: descrição dos sintomas e sinais clínicos apresentados por pacientes portadores da forma clínica aguda da esquistossomose mansoni. A forma aguda ocorre sobretudo em indivíduos que visitam áreas endêmicas de esquistossomose, geralmente na primeira exposição à infecção.

Área de risco: é o espaço geográfico, cujas condições ecológicas, sociais e demográficas mostram-se favoráveis à introdução e ao desenvolvimento do agente infeccioso.

Área endêmica: área geográfica reconhecidamente de ocorrência e transmissão de uma determinada doença.

Área indene vulnerável: área reconhecidamente sem transmissão de uma determinada doença, mas cujas condições ambientais favorecem a instalação da transmissão.

Atenção primária à saúde: integrada ao sistema de serviços de saúde, no qual representa uma função central, é uma premissa para o desenvolvimento econômico e social da comunidade. A atenção primária à saúde constitui o primeiro contato de indivíduos, famílias e comunidades com o sistema nacional de saúde, levando os serviços de saúde o mais próximo possível aos lugares de vida e trabalho das pessoas; consiste no primeiro elemento de um processo contínuo de atenção.

Barragem: barreira construída em um curso d'água, capaz de reter matéria e nutrientes, muitas vezes com a finalidade de gerar energia.

Barreiras edáficas: estruturas do solo que impedem ou limitam a dispersão das espécies.

Base de Schiff: a condensação de um grupamento amina de uma amina primária em um grupamento carbonila de um aldeído ou cetona.

Biogeografia: estudo da distribuição geográfica das populações ou comunidades e dos fatores que a determinam.

Biótico: meio, lugar ou processo com seres vivos; conjunto dos componentes de um ecossistema; conjunto dos componentes vivos de um ecossistema; comunidade de espécies existentes em uma área; de biota, o mesmo que biocenótico.

Cadeia trófica: o mesmo que cadeia alimentar, ou seja, um sistema de níveis de alimentação encontrado em todas as comunidades bióticas.

Cálcio e sinalização celular: Na maioria das células eucarióticas existe um elevado gradiente eletroquímico para o íon cálcio, através da membrana plasmática. A concentração de Ca^{2+} no citoplasma é dez mil vezes menor do que no meio externo. Há também organelas intracelulares, como o retículo endo/sarcoplasmático, que acumulam o cálcio em concentrações muito superiores àquelas presentes no citoplasma. As células possuem mecanismos para produzir mudanças bruscas da concentração de cálcio intracelular e para usá-las como mecanismo de sinalização celular. Outros mecanismos são responsáveis pelo retorno à situação basal, assegurando assim a homeostasia do cálcio.

Canal ginecóforo: canal formado na parte ventral, por dobramento das partes laterais, do verme adulto macho de *S. mansoni*, onde se aloja o verme fêmea.

Candidatos a vacina: antígenos que estimulam resposta imunoprotetora em experimentação preliminar, mas que ainda não foram validados nas diferentes fases de ensaios clínicos de validação.

Carbamoil-fosfato sintetase: enzima que atua na primeira etapa da síntese de pirimidinas.

Carena: formação proeminente que se projeta como uma quilha no desenvolvimento das voltas de uma concha.

Caso confirmado: pessoa de quem foi isolado e identificado o agente etiológico ou de quem foram obtidas outras evidências laboratoriais da presença de uma das formas evolutivas do agente etiológico.

A confirmação do caso está sempre condicionada à observação dos critérios estabelecidos pela definição de caso, que por sua vez está relacionada ao objetivo do programa de controle da doença e/ou do sistema de vigilância.

Caso: pessoa ou animal infectado ou doente apresentando características clínicas, laboratoriais e epidemiológicas específicas.

Catabolismo: o conjunto de reações metabólicas que participam da degradação de um composto complexo em unidades mais simples.

Cauda eqüina: raízes nervosas dos últimos nervos espinhais, os quais ocupam o canal vertebral abaixo do nível da segunda vértebra lombar.

Célula em labareda: célula de sistema excretor que apresenta movimentos ondulatórios semelhantes a uma chama.

Células NK: *natural killer* – naturalmente citotóxica.

Ciclo de Cori: seqüência de reações metabólicas incluídas na via Glicose-Lactato-Glicose.

Ciclo dos ácidos tricarboxílicos: conjunto de reações metabólicas no qual o grupamento acetila da acetil coenzima A é inteiramente degradado a CO_2 e quatro pares de elétrons. Também conhecido como ciclo de Krebs ou ciclo do ácido cítrico (um ácido com três carboxilas).

Circulação linfática: compreende o trajeto percorrido pela linfa, a partir de capilares linfáticos terminais (ou iniciais), de fundo cego, passando por linfonodos e drenando em vasos linfáticos maiores, denominados vasos coletores. Estes, finalmente, desembocam no ducto linfático direito ou no ducto torácico, que, por sua vez, retornam com a linfa à corrente circulatória pelas veias subclávias direita e esquerda, respectivamente. O ducto linfático direito recebe a linfa vinda da hemiface, do hemitórax e do braço direitos. A linfa do resto do corpo passa pelo ducto torácico.

Cladística: estudo do parentesco entre as espécies, tendo por base essencial a análise de suas características genéticas.

Clonagem posicional: clonagem de um gene reconhecido unicamente por seu fenótipo, por meio da identificação do menor fragmento de DNA que o contenha.

CMSP: células mononucleares do sangue periférico.

Co-evolução: evolução de duas espécies que ocorre, concomitantemente, no decurso dos tempos geológicos, permitindo certo grau de adaptação recíproca.

Competição: rivalidade, antagonismo; condição estabelecida entre espécies de mesmo nicho ecológico na insuficiência de abrigos e elementos essenciais.

Cone medular: extremidade distal da medula espinhal.

Congenéricos: que são do mesmo gênero que outro ou outros.

Constante de afinidade: parâmetro que mede a afinidade de um ligante qualquer por uma molécula receptora.

Contaminação: presença de agente infeccioso na superfície do corpo, no vestuário e nas roupas de cama, em brinquedos, instrumentos ou pensos cirúrgicos, em objetos inanimados ou em substâncias como a água, o leite e os alimentos.

Contraste de interferência diferencial: sistema auxiliar para observação em microscopia de campo claro, de modo a contrastar as estruturas que são, assim, melhor evidenciadas, proporcionando, também, fotografias de alta resolução.

Controle (I): quando aplicado a doenças transmissíveis e a algumas não transmissíveis, significa operações ou programas desenvolvidos com o objetivo de reduzir sua incidência e/ou prevalência, ou eliminá-las.

Controle (II): uma série de atividades destinadas a reduzir a prevalência de um agravo até que este não mais constitua problema de saúde pública.

Coprólitos: material resultante da fossilização de fezes humanas ou de outros animais, utilizados em estudo arqueológico e de paleoparasitologia.

Deficiência específica: estado patológico resultante da falta relativa ou absoluta de determinado macro ou micronutriente (vitaminas, minerais).

Derme: camada profunda da pele, sob a epiderme, formada por vários componentes de matriz extracelular, sobretudo colágenos, ricamente vascularizada e inervada. É dividida em duas camadas, sem limites nítidos: a papilar, subepidérmica; e a reticular, mais profunda e em contato com a hipoderme.

Desenvolvimento: processo natural de progressão de um estado anterior, inferior, embrionário ou juvenil para outro posterior, superior, mais complexo, ou estado adulto.

Desnutrição: estado patológico provocado pelo consumo de quantidade insuficiente de alimentos, durante longo período de tempo.

Diapausa (*em* Biomphalaria glabrata): seqüência de eventos, geralmente na fase juvenil do molusco, que inclui a formação de lamelas na abertura da concha e emigração da água, seguida de dormência persistente.

Difusão facilitada: difusão de moléculas, através de membranas biológicas, que requer a participação de carreadores ou de transportadores.

Dióicos: organismos que têm os sexos separados.

DNA: ácido desoxirribonucléico.

Doença de notificação compulsória: doença que, por obrigação legal, deve ser notificada às autoridades sanitárias.

Doença: desajustamento ou falha nos mecanismos de adaptação do organismo ou ausência de reação aos estímulos a cuja ação o organismo está exposto. O processo conduz a uma perturbação da estrutura ou da função de um órgão, ou de um sistema ou de todo o organismo ou de suas funções vitais.

Doenças de veiculação hídrica: doenças que podem ser transmitidas pela água, quando esta serve de meio de transporte de agentes patogênicos eliminados pelo homem em forma de dejetos ou de poluentes

químicos e radioativos, presentes nos esgotos industriais. Esses agentes podem alcançar o homem mediante a ingestão direta da água, pelo contato desta com a pele ou as mucosas ou pelo seu uso em irrigação ou preparação de alimentos.

EAE: encefalite auto-imune experimental.

Ecossistema: o meio ambiente que cerca espécies, populações ou indivíduos, com os quais mantém relações dinâmicas, considerado pelo conjunto total de seus fatores interagentes, vivos e inanimados, estruturados de forma sistêmica.

Ectoparasitos: espécies nocivas que subsistem em partes externas do corpo dos hospedeiros.

Efeito fundador: diz respeito à manifestação de uma característica ou conjunto de características de um ou poucos exemplares de determinada espécie no repovoamento de uma área ou localidade.

Efeito Pasteur: é o efeito pelo qual o oxigênio inibe a glicólise anaeróbica. Em geral, quando se observa o efeito Pasteur, assume-se que o organismo possui também metabolismo aeróbico.

Efetividade: resultados ou conseqüências de determinados procedimentos ou tecnologia médica quando aplicados na prática. A efetividade de um programa de saúde distingue-se da sua eficácia por fazer referência a situações reais, enquanto o segundo termo se aplica apenas aos resultados obtidos em condições ideais.

Eficácia: resultados ou conseqüências de um tratamento, medicamento, tecnologia ou programa de saúde desde um ponto de vista estritamente técnico ou em uma situação de utilização ideal (por exemplo, quando todos os indivíduos aderem à terapêutica).

Embriologia: estudo do desenvolvimento embrionário; efeitos de substâncias químicas no desenvolvimento embrionário; efeitos mutagênicos em células germinativas.

Endemia (I): qualquer doença espacialmente localizada, temporalmente limitada, habitualmente presente entre os membros de uma população e cujo nível de incidência se situe sistematicamente nos limites de uma faixa endêmica previamente convencionada para uma população e época determinadas.

Endemia (II): variação da incidência de uma doença em uma comunidade, isto é, dentro de uma faixa limitada por dois desvios padrões acima e abaixo da incidência da doença, tomando como base certo número de anos anteriores.

Endemicidade: refere-se à intensidade do caráter endêmico de determinada doença, em determinado lugar e intervalo cronológico.

Epidemiologia social: conjunto de conceitos, métodos e formas de ação prática que se aplicam ao conhecimento e transformação do processo saúde-doença na sua dimensão coletiva ou social.

Epidemiologia: ciência que estuda o processo saúde-doença em coletividades humanas, analisando a distribuição e os fatores determinantes das enfermidades, danos à saúde e eventos associados à saúde coletiva, propondo medidas específicas de prevenção, controle ou erradicação de doenças e fornecendo indicadores que sirvam de suporte ao planejamento, à administração e à avaliação das ações de saúde.

Epiderme: camada celular que reveste a superfície do corpo. Na espécie humana, constitui a camada mais externa da pele, que se renova completamente a cada vinte ou trinta dias, mede 4,5 m^2, tem três milhões de glândulas sudoríparas, 16 milhões de bulbos pilosos nos homens e apenas quatro milhões, nas mulheres, e quase um bilhão de terminações nervosas. Consiste em epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, de espessura variável, que chega a 1,5 mm na palma das mãos e na planta dos pés. O número de camadas de queratinócitos varia de animal para animal.

Espécie exótica: espécie presente em uma área ou região geográfica da qual não é originária; introduzida ou estrangeira.

Espécie exótica: espécie presente em uma determinada área geográfica da qual não é nativa (originária).

Espécies alóctones: espécie natural ou comum de determinado lugar, espaço, área ou região geográfica.

Espécies euritópicas: em contraste com as estenotópicas, são espécies que apresentam ampla distribuição geográfica.

Espécies nominais: são os nomes científicos de espécies que foram definidas por exemplares-tipo.

Esplenectomia: retirada cirúrgica do baço.

Esquistossomose mansoni: infecção ou doença causada por *S. mansoni*, que sob a forma de cercária penetra através da pele, onde perde a cauda, transformando-se em esquistossômulo, o qual invade a corrente sanguínea e linfática, passa pelo pulmão e vai se localizar nos vasos mesentéricos, onde fêmeas e machos se acasalam, produzindo ovos de espícula lateral, que são eliminados pela mucosa intestinal ou vão embolizar o fígado por meio do sistema porta, formando granulomas, fibrose e obstrução, podendo ainda alcançar o pulmão e outras vísceras com produção de lesões granulomatosas e obstrutivas vasculares.

EST (*expressed sequence tag* – seqüência expressa marcada): um sítio de seqüência marcada derivado de um clone de cDNA; usado para posicionar e identificar genes na análise genômica.

Estereospecificidade: conformação tridimensional específica, em uma reação química ou enzimática, que permite a interação entre reagentes ou entre a enzima e seu substrato, o que garante a especificidade de uma reação.

Estrutura epidemiológica: conjunto de fatores relativos a agente etiológico, hospedeiro e meio ambiente, que influi sobre a ocorrência natural de uma doença em uma comunidade.

Etiquetas de seqüências expressas (ESTs): coleção de seqüências parciais de DNA representativas de todos os genes que codificam peptídeos e RNAs de um organismo.

Expressão gênica constitutiva: padrão de expressão gênica que não varia significativamente na presença de diferentes estímulos.

Farmacologia: disciplina dedicada ao estudo dos fármacos. A farmacocinética estuda a cinética dos processos de absorção, distribuição e eliminação dos fármacos, ao passo que a farmacodinâmica estuda a interação fármaco-receptor. Farmacologia e química medicinal são disciplinas-chave no processo de desenvolvimento de novos fármacos (farmacogenia).

Fase aguda: fase inicial da esquistossomose, com prurido no local da penetração da cercária, tosse seca na passagem do esquistossômulo pelo pulmão, manifestações de desconforto abdominal em sua instalação nos vasos mesentéricos e, às vezes, febre e manifestações toxêmicas em pacientes primoinfectados provenientes de áreas não endêmicas.

Fase crônica: período de estado da infecção ou da doença que ocorre após a fase inicial, dois a três meses após a infecção que, dependendo da maior ou menor carga parasitária, pode ser assintomática na maioria dos casos ou sintomática, com diarréia intercalada com constipação, cólicas intestinais na forma intestinal, podendo evoluir para a forma hepatointestinal e hepatoesplênica, pulmonar ou formas ectópicas e pseudotumorais.

Fator de risco: fator de exposição supostamente associado ao desenvolvimento de uma doença. Pode ser genético ou ambiental. Ao contrário dos fatores prognósticos, os fatores de risco agem antes da instalação da doença. Considera-se fator de risco de um dano toda característica ou circunstância que acompanha um aumento de probabilidade de ocorrência do fator indesejado, sem que o dito fator tenha de intervir necessariamente em sua causalidade.

Fatores ecológicos: elementos ambientais dotados de capacidade de ação direta sobre os seres vivos em pelo menos uma fase do ciclo vital.

Fenotípica: relativa ao fenótipo (morfologia) ou que expressa o fenótipo.

Fenótipo: conjunto dos caracteres aparentes, que decorrem tanto da parte expressa do seu genótipo como dos fenômenos condicionados pelo meio interno ou externo.

Fermentação homoláctica: conjunto de reações metabólicas que degrada a glicose a lactato.

Fibrose de Symmers: lesão anatômica da fibrose periportal presente na forma hepatoesplênica da esquistossomose.

Fibrose periportal: designação das faixas de fibrose visíveis na ultra-sonografia, sendo classificada segundo a intensidade: leve, moderada ou acentuada. Ocorre nas formas hepatointestinal e hepatoesplênica da esquistossomose mansoni.

Filogenia: tem o papel de organizar o conhecimento sobre a diversidade biológica a partir das relações de parentesco entre grupos. Além de possibilitar o conhecimento da evolução das características morfológicas, comportamentais, ecológicas, fisiológicas, citogenéticas e moleculares de um determinado grupo.

Foco endêmico: localidade ou área circunscrita em que estão reunidas, de modo contínuo e intermitente, as condições epidemiológicas e biológicas necessárias para a transmissão de uma doença.

Fonte de contaminação: pessoa, animal ou substância inanimada responsável pela presença do agente no interior ou superfície do veículo.

Fonte de infecção: pessoa, animal, objeto ou substância de onde um agente infeccioso passa diretamente a um hospedeiro.

Forma hepatoesplênica: forma com fibrose do sistema periportal, com maior ou menor hipertensão do sistema porta, podendo aparecer varizes esofageanas, gástricas e intestinais, que podem levar o paciente

ao sangramento sob a forma de hematemese, por ruptura das varizes esofageanas; ou de melena, pela ruptura das varizes gástricas ou intestinais.

Forma hepatointestinal: forma na qual pode se encontrar o fígado discretamente aumentado, mas sem sinais de hipertensão porta. Esta forma pode regredir para a forma intestinal ou evoluir para a forma hepatoesplênica.

Forma intestinal: é a forma benigna da fase crônica, em 90% dos casos assintomática ou com leves manifestações digestivas, diagnosticada por um eventual exame de fezes onde são encontrados os ovos de *S. mansoni*.

Forma pulmonar: causada pela embolização de ovos no sistema vascular pulmonar, pela abertura de colaterais devido à hipertensão porta, podendo ocasionar uma hipertensão pulmonar ou a formação de fístulas arteriovenosas, levando à cianose.

Formas ectópicas: os ovos de *S. mansoni*, através do sistema vascular venoso, podem alcançar o pâncreas, a medula espinhal, o sistema nervoso central, o coração, o testículo, o ovário e qualquer outro órgão do corpo humano, produzindo as chamadas formas ectópicas.

Formas pseudotumorais: geralmente ocorrem na transição da forma aguda para a forma crônica, em conseqüência à grande quantidade de ovos e granulomas no mesentério, acometendo os epíplons, podendo simular algumas vezes carcinomatose mesentérica ou ainda a presença de pólipos intestinais simulando tumores malignos, os quais muitas vezes somente são diagnosticados pelo exame histopatológico de peças cirúrgicas.

Fractal: a palavra fractal tem dois significados relacionados. Na linguagem coloquial, denota uma forma que é recursivamente construída ou auto-similar, isto é, uma forma que aparece similar em todas as escalas de magnificação e é, portanto, referida como 'infinitamente complexa'. Em matemática, um fractal é um objeto geométrico que satisfaz uma condição técnica específica, tendo, a saber, uma dimensão Hausdorff maior que sua dimensão topológica. O termo fractal foi cunhado em 1975 por Benoît Mandelbrot, do latim *fractus* (= quebrado, fraturado)

Genes ortólogos: genes que codificam produtos cuja função é a mesma, mas que ocorrem em espécies diferentes.

Geo-helmintose: infecção ou doença, causada por helmintos, cuja transmissão depende da poluição fecal do solo.

Geoprocessamento: tecnologia de coleta, tratamento e manipulação de dados geográficos, mediante utilização de programas computacionais.

Glicólise anaeróbica: conjunto de reações metabólicas que degradam a molécula da glicose sem a participação de oxigênio molecular.

Glicosilação: reação na qual mono, di ou trissacarídeos são acrescentados às proteínas.

Glomerulopatia esquistossomótica: nefropatia causada fundamentalmente pela deposição de imunocomplexos na membrana basal do glomérulo, podendo cursar com síndrome nefrótica e insuficiência renal.

GM-CSF: (*granulocyte macrophage-colony stimulating factor*). Fator estimulante de colônias de granulomas e macrófagos.

Granuloma: coleção compacta (organizada) de fagócitos mononucleares maduros (macrófagos e/ou células epitelióides), que pode ou não apresentar algumas características acessórias como necrose e infiltração de outras células inflamatórias.

Grupo monofilético: grupo de espécies em que todas têm o mesmo grau de parentesco (parentesco é a ancestralidade comum) (Cladistas).

Grupo parafilético: grupo baseado em simplesiomorfia (caráter plesiomorfo é o caráter no estado original).

HAM/TSP: *associated myelopathy/tropical spastic paraparesis* – mielopatia associada ao HTLV-1/ paraparesia espástica tropical.

HCV: vírus C da hepatite.

Hepatoesplenomegalia: aumento patológico concomitante dos volumes do fígado e do baço.

Hepatopâncreas: atualmente, denominada órgão digestivo.

Heteroespecífica: diz respeito a espécies distintas.

Hibernação: sono profundo com redução das atividades vitais, geralmente desencadeado pela queda das temperaturas.

Hipernutrição: estado patológico resultante do consumo excessivo de alimentos (provocando excessiva ingestão de calorias), durante longo período de tempo.

Hipertensão porta: síndrome caracterizada pelo aumento de pressão no sistema porta que tem como conseqüências esplenomegalia e formação de anastomoses porto-sistêmicas.

HIV: vírus da imunodeficiência humana.

Hospedeiro: o homem ou o animal vivo, inclusive aves e artrópodes, que ofereça, em condições naturais, subsistência ou alojamento a um agente infeccioso. Alguns protozoários e helmintos passam fases sucessivas em hospedeiros alternados, de diferentes espécies. O hospedeiro em que o parasito atinge a maturidade ou passa sua fase sexuada denomina-se hospedeiro primário ou definitivo e aquele em que o parasita se encontra em fase larvária ou assexuada, hospedeiro secundário ou intermediário.

Hospedeiro intermediário: aquele que apresenta o parasito em sua fase larvária ou assexuada. Ex.: o caramujo é o hospedeiro intermediário do *S. mansoni*.

HTLV-1: vírus linfotrópico de células T humanas tipo 1.

I^{35}: isótopo radioativo do elemento iodo, muito utilizado para marcar compostos como aminoácidos, proteínas ou ácidos graxos não saturados.

IFN-γ: Interferon-γ.

IL: Interleucina.

IL-2R: receptor de IL-2.

Imunidade concomitante: resistência à infecção, na presença de infecção ativa.

Imunocomplexos: complexos antígeno-anticorpo.

Imunomodulação do granuloma: após a sua formação, o granuloma diminui de tamanho, em virtude da redução da resposta inflamatória ao redor dos ovos do *S. mansoni.* Esse processo é denominado imunodulação do granuloma. Vários fatores já foram descritos como participantes desse fenômeno. Dentre eles, podemos citar a modulação da resposta de células T, fatores solúveis presentes no plasma dos indivíduos infectados, rede idiotípica/antiidiotípica, complexos imunes, a presença de substâncias antiinflamatórias e a secreção de citocinas, principalmente IL-10.

Indicadores de saúde: parâmetros utilizados internacionalmente com o objetivo de avaliar, sob o ponto de vista sanitário, a higidez de agregados humanos, bem como fornecer subsídios aos planejamentos de saúde, permitindo o acompanhamento das flutuações e tendências históricas do padrão sanitário de diferentes coletividades consideradas à mesma época ou da mesma coletividade em diversos períodos de tempo.

Infecção: penetração e desenvolvimento ou multiplicação de um agente infeccioso no organismo de uma pessoa ou animal.

Infecção-desafio: infecção que se segue a uma situação imunizante.

Inquérito epidemiológico: o estudo epidemiológico das condições de morbidade por causas específicas, efetuado em amostra representativa ou no todo de uma população definida e localizada no tempo e no espaço. Esse tipo de estudo só é levado a efeito quando as informações são inexistentes ou, se existentes, são inadequadas em virtude de diagnóstico deficiente, notificação imprópria ou insuficiente, mudança de comportamento epidemiológico de determinadas doenças, dificuldade na avaliação de cobertura ou eficácia vacinais etc.

Investigação epidemiológica: estudo realizado, particularmente no caso de doenças transmissíveis, a partir de casos clinicamente declarados ou mesmo de portadores, com a finalidade de detectar as fontes de infecção e permitir a adoção das medidas profiláticas mais adequadas. Não é um estudo por amostras, sendo utilizado na investigação de casos, de óbitos ou de surtos.

Isoenzimas: constituem as diferentes formas moleculares da mesma enzima, que são separadas de acordo com suas cargas elétricas e/ou peso molecular em uma corrida eletroforética.

Isoformas: qualquer uma das múltiplas formas da mesma proteína.

Isolamento reprodutivo: mecanismo que separa uma espécie das outras pelo impedimento real ou potencial da troca de material genético entre os indivíduos de uma população natural.

Jusante: contrário de montante, ou seja, região da unidade de estudo (rede de drenagem, bacia ou manancial hídrico) localizada em nível altimétrico inferior ao do objeto referenciado.

KDa – kilodaltons.

Lamelas: projeções planas semelhantes a dentes, presentes no interior de algumas conchas.

Lêntico: que se refere a água parada ou com movimento lento ou estagnado, como lagos e charcos, ou se refere a organismo que vive em água parada, com movimento lento ou estagnado, incluindo lagos e charcos.

Lesão expansiva intracraniana ou intramedular: lesão de etiologia variada (tumoral ou não-tumoral) que ocupa espaço no sistema nervoso central e comprime o tecido nervoso adjacente.

Linha de *fenon*: marca, em um dendograma, a média de similaridade entre os indivíduos de um grupo. A divergência abaixo dessa linha indica a existência de grupos com percentual de bandas compartilhadas inferiores à média dos demais exemplares, sugerindo a existência de grupos distintos.

Líquor: líquido cefalorraquidiano ou cérebro-espinhal.

Lótico: ambiente relativo a água movente ou a organismo que nela habita, como um rio ou corrente.

LS-PCR (*low stringency polymerase chain reaction*): reação em cadeia da polimerase em baixa estringência, utiliza um par de iniciadores específicos em condições de baixa estringência de anelamento. A reação tem como produtos uma banda específica e outras bandas associadas às condições de interações aleatórias dos iniciadores utilizados. A aplicação de uma temperatura de anelamento, baixa, permite que estes iniciadores se liguem às regiões anônimas complementares do genoma, gerando um perfil reprodutível, cuja base teórica é a mesma da AP-PCR. A análise destes produtos permite a obtenção de informações adicionais sobre o genoma, que não poderiam ser observadas numa reação de PCR específica.

Macrófita: planta geralmente aquática, de tamanho macroscópico.

Má-nutrição: designação genérica para estado patológico resultante da deficiência ou do excesso relativos ou absolutos de um ou mais nutrientes essenciais, provocando doença nutricional manifestada por alterações clínicas, bioquímicas ou fisiológicas.

Mapa de ligação: um mapa cromossômico; um mapa abstrato de *loci* cromossômicos, baseado em freqüências de recombinação.

Marasmo: forma polar de desnutrição energético-protéica caracterizada, clinicamente, por alterações do crescimento e do desenvolvimento, perda da elasticidade da pele, redução do panículo adiposo e da massa muscular, alterações da cor e da textura dos cabelos.

Marcadores genéticos: alelos usados como sondas experimentais para seguir um indivíduo, um tecido, uma célula, um núcleo, um cromossomo ou um gene.

Matriz extracelular: é dividida em três tipos básicos: membrana basal, tecido conjuntivo (matriz ou estroma intersticial) e matriz provisória. As membranas basais, também denominadas de lâminas basais, separam as células que a sintetizam das células ou tecidos adjacentes. Epitélio, adipócitos, células musculares, células de Schwann e endotélio capilar produzem membranas basais. São, em geral, constituídas por colágeno IV, laminina, entactina/nidogênio e perlecan (um proteoglicano de heparansulfato). Já a matriz provisória é formada por organizações extracelulares temporárias de proteínas da matriz derivadas do plasma e de componentes derivados do tecido, que se acumulam em locais de lesão (por exemplo, hiluronato, tenascina e fibronectina). A matriz extracelular de tecido conjuntivo (estroma ou interstício) é formada por moléculas de colágeno, fibras do sistema elástico (oxitalânicas, elaunínicas e elásticas), glicoproteínas não colagênicas, proteoglicanos e glicosaminoglicanos.

Maturação: Desenvolvimento completo dos indivíduos até alcançar a idade reprodutiva.

Mecanismos imunológicos envolvidos na patogênese da esquistossomose aguda: interpretação de análises mostrando os exames imunológicos alterados que mais se associam aos sintomas e sinais clínicos encontrados nos pacientes. Essa análise visa esclarecer que tipo de produtos do sistema de defesa do indivíduo podem ser responsáveis por indução de lesões nessa doença.

Metabolismo aeróbico: conjunto de reações metabólicas nas quais há participação de oxigênio molecular.

Metabolismo energético: conjunto de reações que produz energia sob a forma de compostos que a armazenam em suas valências (por exemplo, o ATP).

Metabolismo ou reações anapleróticas: qualquer via metabólica que age como suporte de uma via metabólica central.

Método epidemiológico: uma variante do método científico associado à epidemiologia. Aceita-se, condicionalmente, a denominação 'metodologia epidemiológica' por referência às estratégias, técnicas e procedimentos estruturados de pesquisa no campo da epidemiologia.

Mielorradiculopatia: síndrome clínica caracterizada por sinais e sintomas decorrentes do acometimento tanto da medula quanto das raízes espinhais.

Modelos assistenciais alternativos: modelos que visam à integridade da atenção à saúde, atentando fundamentalmente para as necessidades de saúde da população em um dado território, e para o impacto sobre elas. Portanto, proporcionam uma 'oferta organizada' em função dos principais agravos e grupos populacionais prioritários e, conseqüentemente, uma reorientação da demanda. É o modelo proposto pelo SUS.

Moluscicida: substância química utilizada para eliminar e/ou reduzir a população de moluscos transmissores da esquistossomose nos criadouros naturais.

Monitorização: elaboração e análise de mensurações rotineiras visando detectar mudanças no ambiente ou no estado de saúde da comunidade, não devendo ser confundida com vigilância. Para alguns, monitorização implica intervenção à luz das mensurações observadas.

Montante: região da rede de drenagem, bacia ou manancial hídrico localizado em nível altimétrico superior ao do objeto referenciado.

Morbidade: variável característica das comunidades de seres vivos, se refere ao conjunto dos indivíduos que adquirem doenças num dado intervalo de tempo. Denota-se morbidade ao comportamento das doenças e dos agravos à saúde em uma população exposta.

Municipalização das ações de saúde: a gestão, pelo poder público do município, dos serviços de saúde de abrangência municipal. Compreende-se que essa gestão exige a desconcentração de serviços de saúde e a descentralização de recursos técnicos, administrativos, financeiros e físicos para o poder municipal, a quem caberá a responsabilidade sobre eles. No nível municipal, a secretaria da saúde ou órgão equivalente exerce a direção do Sistema Único de Saúde (SUS), que poderá ainda se organizar em distritos, de forma a integrar e articular recursos, técnicas e práticas voltadas para a cobertura total das ações de saúde.

Mutiplex-PCR: técnica pela qual duas ou mais regiões do DNA são simultaneamente amplificadas em uma mesma reação, podendo os pares de iniciadores serem específicos para organismos diferentes.

Neuroesquistossomose: envolvimento sintomático ou assintomático do sistema nervoso central secundário à infecção esquistossomótica.

Neurotransmissão: a maioria dos neurônios se comunica entre si e com outras células (células musculares, por exemplo), através de mensageiros químicos (neurotransmissores) que eles sintetizam e secretam, geralmente pelo processo de exocitose de vesículas armazenadoras, iniciado com o aumento da concentração de cálcio na terminação neuronal.

Níveis de proteção: geralmente são definidos, nas vacinas em desenvolvimento contra a esquistossomose, como o percentual médio de redução da carga de vermes adultos em um grupo imunizado de animais experimentais, em comparação com um grupo-controle, após a realização de infecções desafiadoras uniformes.

Nocaute: Células ou animais nos quais existe um alelo nulo produzido artificialmente. Geralmente a inativação de um gene específico é causada artificialmente pelo rompimento na seqüência codificadora. Os genes-alvo normalmente estão associados a uma doença ou processo biológico.

Northern blot: técnica que utiliza uma sonda de DNA ou RNA marcada radiativamente ou com um grupo fluorescente para hibridizar RNA imobilizado em uma membrana de nylon ou de nitrocelulose.

Olivácea: que se assemelha ou tem a cor de azeitona.

Organismo Geneticamente Modificado (OGM): segundo a lei n. 8.974, de 05/01/1995 (Brasil), um organismo geneticamente modificado é aquele cujo material genético (DNA/RNA) tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética. Não são considerados como OGM aqueles resultantes de técnicas que impliquem a introdução direta, num organismo, de material hereditário, desde que não envolva a utilização de moléculas de DNA/RNA recombinante ou OGM, tais como: fecundação *in vitro*, conjugação, transdução, transformação, indução poliplóide e qualquer outro processo natural.

Ovotestis: órgão do aparelho reprodutivo de organismos hermafroditas (associação de ovário com testículo).

Oxamniquine: droga usada rotineiramente, no Brasil, para tratamento da esquistossomose.

Parasito: organismo, geralmente microrganismo, cuja existência se dá às expensas de um hospedeiro. O parasito não é obrigatoriamente nocivo ao seu hospedeiro. Existem parasitos obrigatórios e facultativos: os primeiros sobrevivem somente na forma parasitária e os últimos podem ter uma existência independente.

Parasito-hospedeiro: relação de interação que se estabelece entre um parasito e o seu hospedeiro.

PCR (*polymerase chain reaction*): trata-se de uma reação em cadeia da polimerase, consistindo em uma técnica que permite a síntese enzimática *in vitro* de seqüências específicas de DNA, mediante o uso de dois iniciadores que se hibridizam em fitas opostas do DNA, flanqueando regiões específicas delimitadas pelos iniciadores. A automação da técnica foi possível após a introdução da enzima DNA-polimerase termoestável, obtida da bactéria *Thermus aquaticus*.

PCR-RFLP (*polymerase chain reaction/restriction fragment length polymorphism*): técnica de reação em cadeia da polimerase e polimorfismo de tamanho de fragmentos de restrição, baseia-se na amplificação pela PCR de qualquer gene e a subseqüente restrição desse fragmento com enzimas que cortam a fita dupla em sítios específicos de reconhecimento, denominados sítios de restrição.

PGE2: prostagladina E2.

Plesiomorfia: maior antiguidade relativa.

Polimorfismo: a ocorrência, em uma população (ou entre populações), de várias formas fenotípicas associadas a alelos de um gene ou homólogos de um cromossomo.

Portador: indivíduo infectado, pessoa ou animal, que alberga, sem apresentar sintomas, um agente infeccioso específico de uma doença, constituindo fonte potencial de infecção. O estado de portador pode ocorrer a um indivíduo durante o curso de uma infecção inaparente (geralmente denominado portador são ou assintomático) ou durante o período de incubação, nas fases de convalescença e pós-convalescença de infecções que se manifestam clinicamente (comumente chamado de portador em incubação e portador convalescente, respectivamente). Em qualquer dos casos, o estado de portador pode ser breve ou prolongado (portador temporário ou transitório, ou portador crônico).

Pós-traducional: modificações que ocorrem em proteínas imediatamente após a etapa de sua tradução do mensageiro.

Praziquantel: droga considerada a de escolha para o tratamento das três principais espécies de *S. mansoni* que acometem o homem.

Predação: destruição da vida animal ou vegetal para obtenção de alimento.

Prevalência: casuística de morbidade que se destaca por seus valores maiores que zero sobre os eventos de saúde ou não-doença. É termo descritivo da força com que se subsistem as doenças nas coletividades.

Prevenção: termo que, em saúde pública, significa a ação antecipada, tendo por objetivo interceptar ou anular a evolução de uma doença. As ações preventivas têm por fim eliminar elos da cadeia patogênica, ou no ambiente físico ou social ou no meio interno dos seres vivos afetados ou suscetíveis. De acordo com suas fases de aplicação, é possível considerar as seguintes medidas preventivas: prevenção primária – a ser empregada no período pré-patogênico; prevenção secundária – a ser aplicada no período patogênico, antes da ocorrência dos defeitos; prevenção terciária – utilizada no período patogênico, após a sobrevinda de defeitos, visa obter a recuperação.

Processamento pós-traducional: mecanismo de modulação da função protéica, mediante proteólise.

Processo saúde-doença: o modo pelo qual ocorre, nos grupos da coletividade, o processo biológico de desgaste e reprodução, destacando como momentos particulares a presença de um funcionamento biológico diferente, que gera conseqüências para o desenvolvimento regular das atividades cotidianas, isto é, o surgimento da doença.

Protandria: em trematódeos hermafroditas, o sistema genital masculino matura antes do feminino.

QTL (*locus* de característica quantitativa): a posição de um gene cujos alelos variantes contribuem para a variação quantitativa de alguma característica.

Quiescência: descanso para a redução do dispêndio energético cujas formas são a estivação e a hibernação.

Quimioterapia: uso de uma droga com o objetivo de tratar uma doença clinicamente reconhecível.

Reação granulomatosa: na esquistossomose a deposição de ovos nos tecidos do hospedeiro é a causa principal da patologia. Antígenos solúveis liberados dos ovos do *S. mansoni* levam ao recrutamento de células do sistema imune que se dispõem ao redor dos mesmos. Esse aglomerado de células é denominado granuloma. Podemos dizer que a reação imunológica que se forma em resposta aos ovos retidos nos tecidos do hospedeiro, por meio de uma resposta imune de hipersensibilidade retardada, mediada principalmente por linfócitos T CD4+, é a responsável pela formação do granuloma.

Receptores nicotínicos: receptores para acetilcolina principalmente localizados no músculo esquelético.

Reforma sanitária: constitui uma proposta abrangente de mudança social no Brasil e, ao mesmo tempo, um processo de transformação da atual situação sanitária. A questão do papel da Reforma Sanitária no estabelecimento de uma ordem social contribui para situar a política de saúde como elemento de importância fundamental na presente conjuntura de estabilização da ordem política. Constam como objetivos da reforma sanitária brasileira: universalização de acesso aos serviços de saúde, integralidade da assistência, regionalização, hierarquização e descentralização dos serviços de saúde.

Região neotropical: região biogeográfica que compreende a América Central, a região do Caribe e a América do Sul.

Regulação alostérica: refere-se a enzimas que estão sujeitas a regulação de sua atividade por meio da ligação de ligantes diversos em um outro sítio que não o seu centro ativo.

Reprodução assexuada de *S. mansoni*: etapas evolutivas da multiplicação do parasito em seus hospedeiros intermediários.

Reservatório: sistema hídrico entre um rio e um lago.

Resistência: propriedade ou disposição orgânica de defesa contra a aquisição e desenvolvimento de doenças; imunidade.

Resistência natural: capacidade de resistir à doença independentemente de anticorpos ou de reação específica dos tecidos. Resulta de fatores intrínsecos do hospedeiro, anatômicos ou fisiológicos, podendo ser genética ou adquirida, permanente ou temporária.

Resposta imune na esquistossomose aguda: avaliação de resposta imunológica que pacientes apresentam quando têm a forma aguda da esquistossomose mansoni, incluindo detecção de produtos no soro (citocinas, anticorpos, complexos antígeno-anticorpos) ou em células sanguíneas cultivadas e estimuladas ou não com os antígenos de *S. mansoni* (citocinas).

RNA: ácido ribonucléico.

Sazonalidade: variação estacional; de sazão, estação do ano.

Seqüenciamento: técnica capaz de identificar as seqüências das bases nitrogenadas, baseando-se principalmente na interrupção controlada da replicação enzimática do DNA pela utilização de didesoxirribonucleosídeo trifosfato (ddNTP), que impede a progressão da síntese.

Simpatria: ocorrência, concomitante, no espaço e no tempo, de duas ou mais espécies diferentes em determinada área geográfica, resultante da superposição total ou parcial de suas respectivas áreas de distribuição geográfica.

Simplesiomorfia: posse comum da mesma plesiomorfia por mais de um grupo.

Síndrome nefrótica: síndrome caracterizada basicamente por proteinúria significativa, hipoproteinemia e edema.

Sinergismo: quando a infecção agrava a má-nutrição preexistente ou esta última provoca diminuição da resistência orgânica à infecção.

Sinistral: diz-se da concha com abertura voltada para o lado esquerdo.

Síntese 'de novo': expressão latina que significa biossíntese de um composto complexo a partir de seus componentes mais simples (por exemplo, proteína a partir de aminoácidos).

Sintopia: da ocorrência em um mesmo sítio ou lugar; no caso das espécies, equivale ao compartilhamento de biótopos.

Sistema do complemento: grupo de proteínas que são ativadas seqüencialmente; fazem parte da resposta imune inata e desempenham importante papel na inflamação e fagocitose.

Sistema interno de defesa: conjunto de processos celulares e humorais envolvidos no reconhecimento e destruição de microrganismos em moluscos.

Sistema Único de Saúde (SUS): o conjunto de ações e serviços de saúde prestados por órgãos e instituições federais, estaduais e municipais, das administrações direta e indireta e das fundações mantidas pelo Poder Público. Estão incluídas no SUS as instituições públicas federais, estaduais e municipais de controle de qualidade, pesquisa e produção de insumos, medicamentos, inclusive de sangue e hemoderivados, e fabricantes de equipamentos para a saúde.

Sistemas Adaptativos Complexos (SAC): constituem casos especiais de sistemas complexos. Eles são complexos no sentido de que são diversos e são formados por múltiplos elementos interconectados. São adaptativos porque têm a capacidade de mudar e aprender da experiência (por exemplo, modulação do granuloma). Um SAC é uma rede dinâmica formada por muitos agentes (células, espécies, indivíduos, firmas, nações), que agem em paralelo, atuando constantemente e reagindo ao que outros agentes estão fazendo. O controle de um SAC tende a ser altamente disperso e descentralizado. Qualquer comportamento coerente que ocorre no sistema, deriva da competição e cooperação entre os agentes. O comportamento total do sistema resulta de uma grande quantidade de decisões tomadas a cada momento por muitos agentes individuais. O granuloma esquistossomótico é um exemplo de SAC.

Sítios de atrito: locais, no hospedeiro, onde há resistência à penetração de um parasito, seja por mecanismos anatômicos, inflamatórios e/ou imunológicos. O termo 'atrito' foi cunhado para referir-se a ausência de evidência direta a respeito do destino exato (morte, reabsorção ou eliminação) dos esquistossômulos, sendo inferido pelo decréscimo exponencial do número de focos autorradiográficos nos órgãos, com exceção do fígado.

Southern blot: técnica que utiliza uma sonda de DNA marcada radiativamente ou com moléculas fluorescentes para hibridizar DNA, imobilizado em uma membrana de *nylon* ou de nitrocelulose.

***Splicing* alternativo**: mecanismo pelo qual mensageiros maduros múltiplos são gerados a partir do mesmo pré-RNAm.

SSR-PCR (*simple sequence repeat-polymerase chain reaction*): PCR ancorada a repetições de seqüências simples, baseada no ancoramento dos iniciadores nas regiões finais 3' ou 5' dos microssatélites, reduzindo possíveis alvos de anelamento.

Surto epidêmico: epidemia de proporções reduzidas, que atinge uma pequena comunidade humana. Muitos restringem o termo para o caso de instituições fechadas, outros o usam como sinônimo de 'epidemia'.

Susceptibilidade/suscetibilidade: propriedade ou disposição orgânica para a aquisição e desenvolvimento de agentes infecciosos e de doenças; sensibilidade.

Susceptível/suscetível (I): pessoa ou animal que não possui, presumivelmente, resistência contra determinado agente patogênico e que, por essa razão, pode contrair a doença se posto em contato com esse agente.

Tensegridade: em inglês, *tensegrity*, termo resultante da fusão de duas palavras: *tensional integrity* (integridade tensional). Refere-se à integridade de estruturas decorrente da sinergia entre componentes de tensão e compressão balanceados.

Terapêutica clínica: tratamento realizado em pacientes.

Terapêutica experimental: é a avaliação de produtos naturais ou produtos químicos em animais de laboratório.

Th1: Linfócito T auxiliar do tipo 1.

Th2: Linfócito T auxiliar do tipo 2.

Th3: Linfócito T auxiliar do tipo 3.

Tipos de músculos: os músculos estriados (esqueléticos e cardíaco) possuem sarcômeros, unidades funcionais bem delimitadas por profundas invaginações da membrana celular, formando o sistema tubular transverso, em contato íntimo com o retículo sarcoplasmático. Ao contrário, os músculos lisos possuem invaginações mais superficiais da membrana plasmática. Quanto ao processo de excitação-contração, há clara diferença entre o músculo esquelético e o liso: enquanto a liberação de cálcio intracelular tem papel preponderante no músculo esquelético, a entrada de cálcio extracelular é indispensável no músculo liso, pelo menos para sustentar o estado contrátil.

TNF-α: fator de necrose tumoral-α.

Tolerância: é quando os parasitos não respondem à droga, sabidamente esquistossomicida, sem nunca terem tido contato com a mesma.

Transcriptoma: a fração do genoma de um organismo que é transcrita. Em outras palavras, a coleção de genes que transcrevem RNA (RNA ribossomal e tRNA) ou que produzem RNAs mensageiros que, por seu turno, são traduzidos em peptídeos.

Transdução de sinais: transmissão de estímulos da superfície celular ao núcleo, através de interações moleculares, resultando em modificação da expressão de genes.

Transgênico (organismo): trata-se de um animal cujo genoma foi sujeito à modificação artificial. Um organismo transgênico resulta da inserção de DNA estranho em núcleo de embrião fertilizado.

Transmissão: transferência de um agente etiológico animado de uma fonte primária de infecção para um novo hospedeiro. A transmissão pode ocorrer de forma direta ou indireta.

Transporte ativo: transporte de pequenas moléculas que envolve o dispêndio de energia, geralmente a hidrólise do ATP.

Trans-splicing: mecanismo que permite que éxons derivados de RNAs independentemente transcritos sejam unidos de maneira precisa.

Treg: linfócitos T regulatórios.

Triagem de drogas: é o teste de produtos sintéticos ou naturais, em animais de experimentação, visando encontrar atividade contra um patógeno.

Ultra-som: método de diagnóstico por imagem, baseado no fenômeno de interação do som em tecidos, ou seja, a partir da transmissão da onda sonora pelos tecidos observa-se a anatomia, a textura e a estrutura dos órgãos em imagens seccionais que podem ser obtidas em qualquer orientação espacial.

Ureotélico: descrição de grupos de organismos nos quais a uréia é o principal produto final da degradação de compostos que contêm nitrogênio.

Uricotélico: descrição de grupos de organismos nos quais o ácido úrico é o principal produto final da degradação de compostos que contêm nitrogênio.

USG-doppler: revela os órgãos em movimento, proporcionando análise simultânea sonomorfológica e hemodinâmica. A USG-doppler permite o estudo dos vasos sanguíneos se arteriais ou venosos, e a direção e velocidade do fluxo. De modo indireto, fornece o cálculo do volume do fluxo usando o produto da velocidade média pela área ou secção transversa do vaso.

Vacinas de DNA: genes codificando antígenos relevantes podem ser inseridos por engenharia genética em vetores apropriados e diretamente injetados no animal a ser vacinado, onde são expressos na forma de proteína.

Valência ecológica: capacidade da espécie para a ocupação e povoamento; valor associado à capacidade de superação dos limitantes ecológicos.

Vetor biológico: vetor que, além de funcionar como veiculador do agente infeccioso, desempenha também a função de abrigo biológico, no qual o agente cumpre parte necessária de seu ciclo vital.

Vetor: são seres vivos que veiculam o agente desde o reservatório até o hospedeiro potencial. Vetores mecânicos agem apenas como transportadores de agentes infecciosos; são insetos que caminham ou voam e assim carreiam o agente por suas patas, probóscide ou asas contaminadas, ou proporcionam a passagem do microrganismo através do trato gastrintestinal. Os parasitos não se multiplicam nem sofrem quaisquer modificações no interior dos vetores.

Vigilância epidemiológica: um conjunto de ações que proporcionam o conhecimento, a detecção ou prevenção de qualquer mudança nos fatores determinantes e condicionantes de saúde individual ou coletiva, com a finalidade de recomendar e adotar as medidas de prevenção e controle das doenças ou agravos.

Vigilância sanitária: conjunto de ações dirigidas à defesa e à proteção da saúde coletiva, cuja função é identificar e controlar permanentemente os fatores de risco à saúde individual e coletiva, por intermédio de ações desenvolvidas contra condições, produtos, serviços, elementos, transportes, meios e origens que, direta ou indiretamente, possam produzir agravos à saúde.

Western blot: técnica que mede a ligação de anticorpos a antígenos, geralmente proteínas, imobilizados em membrana de nitrocelulose ou equivalente.

Zimodemo: população de organismos que possuem formas semelhantes de enzimas específicas.

ÍNDICE

A

âaâ *ver* hematúria
abscesso hepático piogênico 790, 792-796
Adema, Coen M. 339
AFLP *ver* polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados
agentes mutagênicos 384-387
agonistas muscarínicos 222
aids e esquistossomose 719-720, 761, 799-801
Almeida, Antônio Firmato de 745
Ambihar® *ver* niridazol
análise discriminante 58
análise seriada da expressão gênica 521, 523
anatomia patológica da esquistossomose 875-876
Ancylostoma duodenale e *Schistosoma mansoni*, co-infecção por 723
Anderson, Robert I. 897
Andrade, Zilton Araújo de 745
anidrobiose (*Biomphalaria* spp.) 155-156, 421, 469-470
    e diapausa 429-430
antagonistas dopaminérgicos 221
Anthiomaline® *ver* tiomalato de antimônio e sódio
antígeno funcional de leucócitos-1 703
antígeno solúvel do ovo 119, 575, 579, 589, 595-596, 675, 693-695, 704, 707, 907
apirase 114
AP-PCR *ver* reação em cadeia da polimerase com iniciadores arbitrários
arteméter (esquistossomicida) 838-839, 856-857
artemisina (esquistossomicida) 838, 856-857
artesunato (esquistossomicida) 838-839, 856-857, 860
Ascaris lumbricoides e *Schistosoma mansoni*, co-infecção por 723
Asfora, J. 745
asma e esquistossomose 727, 801
atividade motora do verme adulto (*S. mansoni*) 238
    controle da homeostasia do cálcio 228-234
    modelos experimentais para avaliação da 213-218
    neurotransmissores envolvidos no controle da 218-227
Atkinson, Edward Leicester 35
atopia e esquistossomose 801
atrito 111
Aylacostoma chloroticum 445
Aylacostoma guaraniticum 445
Aylacostoma stigmaticum 445
Aylacostoma tenuilabris 443-445

B

BACs *ver* cromossomos artificiais de bactérias
Barbosa, Frederico Simões 287, 747
Barreto, João de Barros 1031
Barros Barreto, João de *ver* Barreto, João de Barros
Barros, P. R. 747
Basommatophora 286
Bayer S.A. 835, 850-851, 853, 984
Bayluscide® ver *niclosamida*
Bilharz, Theodor Maximilian 32-33, 897
Bilharzia haematobia ver *Schistosoma haematobium*
Bilharzia magna ver *Schistosoma haematobium*
bilharzina 114
bilharziose *ver* esquistossomose
Biltricide® *ver* praziquantel
biobalística 259-260, 264
biologia do desenvolvimento (*B. glabrata*)
    apresentação e definição 348-349
    corpúsculos polares 350, 352-353
    efeito morfogenético da cafeína 374-383
    nomenclatura e notação 351-352
    técnica para evidenciar o limite celular dos embriões 352
biologia molecular no estudo de *Biomphalaria* 314-315
    detecção de infecção por *S. mansoni* 332-339
    filogenia 328-331
    genoma 331-332
    taxonomia molecular 315-323
    variabilidade genética 323-328
biomonitoramento de poluentes mutagênicos 384-387
Biomphalaria
    acasalamento 466
    adaptação 460-461, 465-468
    biologia molecular aplicada ao estudo de 314-339
    co-evolução com *Schistosoma* 464
    coleta 468
    como biomarcador de mutagenicidade 384-387
    competição e competidores 471-473
    conseqüências da infecção por *S. mansoni* 156
    densidade populacional 464, 467-474, 477

detecção de *S. mansoni* em 332-339
diapausa 470
distribuição geográfica por estado (Brasil) 394-416
efeitos da densidade populacional no parasito 156
espécies infectadas por *S. mansoni* no Brasil 488
espécies utilizadas como hospedeiros experimentais 302-305
estudo da expressão gênica 521-523
filogenia 31, 315-316, 328-331
habitat e distribuição geográfica 311-312, 461, 471, 477
hermafroditismo 465
histórico 287
importância epidemiológica 311-314
infecção experimental por *S. mansoni* 532-534
mapeamento genético 515-517
maturação do ovo e fertilização 350
métodos de criação em laboratório 530-532, 540-544
morfologia e fisiologia 288-291, 465-467
oviposição 466
predadores 473
reprodução 465-466
sintopia 472-473
suscetibilidade ao *S. mansoni* 311-314, 465, 476-477, 486-503
taxonomia 287, 311, 315
taxonomia molecular 315-323
técnicas de estudo em laboratório 534-536
técnicas de mapeamento genético 517-520
variabilidade genética 323-328, 465
Biomphalaria Alexandrina 35-36
distribuição geográfica 311
filogenia 328-329
taxonomia 322
Biomphalaria amazônica
distribuição geográfica 304, 311
em usinas hidrelétricas (Brasil) 443-444, 449
filogenia 328, 330
infecção experimental por *S. mansoni* 305, 394, 488
morfologia 304-305
taxonomia 318, 320
Biomphalaria andecola
distribuição geográfica 312
Biomphalaria angulosa
distribuição geográfica 312
Biomphalaria camerunensis
distribuição geográfica 311
Biomphalaria choanomphala
distribuição geográfica 311
Biomphalaria cousini
distribuição geográfica 312
Biomphalaria edisoni
distribuição geográfica 312
Biomphalaria equatoria
distribuição geográfica 312
Biomphalaria gaudi
distribuição geográfica 312
Biomphalaria germaini
distribuição geográfica 312
Biomphalaria glabrata 330
adaptação 465, 470
anidrobiose 421, 429-430
compatibilidade com *S. mansoni* 313
competição com outras espécies 446, 472
conseqüências da infecção pelo *S. mansoni* 156
criação em laboratório 826
desenvolvimento embrionário 352-388
diapausa 421-432
distribuição geográfica 291-292, 311-312, 393, 396-401, 471
fatores que influenciam a infecção pelo *S. mansoni* 149
filogenia 329
fototaxia 151
genoma 331-332, 339
hospedeiro intermediário do *S. mansoni* no Brasil 37, 309
infecção experimental pelo *S. mansoni* 37
morfologia 288, 290, 292-295
penetração e evolução dos miracídios em 151
reprodução 466
resistência e suscetibilidade ao *S mansoni* 156, 312-313, 460-461, 476, 488
sobrevida 156
sobrevivência fora d'água 427-430
taxonomia 291-292, 316-318, 320-323
variabilidade genética 324-328
Biomphalaria havanensis
distribuição geográfica 311
Biomphalaria helophila
distribuição geográfica 312
Biomphalaria hermanni
distribuição geográfica 312
Biomphalaria intermedia
distribuição geográfica 312
filogenia 329-330
preferência por ambientes menos poluídos 471
taxonomia 316, 318-320

variabilidade genética 327
Biomphalaria kuhniana
distribuição geográfica 312
filogenia 330
taxonomia 316, 318-321
variabilidade genética 327-328
Biomphalaria nicaraguana
distribuição geográfica 312
Biomphalaria obstructa
distribuição geográfica 312
taxonomia 316
Biomphalaria occidentalis
distribuição geográfica 298, 312, 314
em usinas hidrelétricas (Brasil) 443-445
filogenia 329, 330
morfologia 298
preferência por ambientes menos poluídos 471
taxonomia 316-320
variabilidade genética 327
Biomphalaria oligoza
distribuição geográfica 312
filogenia 330
taxonomia 318, 320
Biomphalaria orbignyi
distribuição geográfica 312
Biomphalaria peregrina
distribuição geográfica 302, 311
filogenia 329-330
infecção experimental por *S. mansoni* 394, 488
morfologia 302-303
preferência por ambientes menos poluídos 471
resistência a variações de temperatura 468
taxonomia 316, 318-320
Biomphalaria pfeifferi
distribuição geográfica 311
filogenia 328-329
variabilidade genética 327, 329
Biomphalaria prona
distribuição geográfica 312
taxonomia 321
Biomphalaria schrammi
distribuição geográfica 312
filogenia 329-330
resistência à seca 470
taxonomia 316, 318, 320
Biomphalaria sericea
distribuição geográfica 312
Biomphalaria smithi
distribuição geográfica 312
morfologia 288
Biomphalaria stanleyi
distribuição geográfica 312
Biomphalaria straminea
adaptação 465, 468, 470
competição com outras espécies 472
desenvolvimento embrionário 352-388
detecção de *Schistosoma mansoni* em 338, 394
distribuição geográfica 299-300, 311, 396-397, 401-408, 471, 476
em usinas hidrelétricas (Brasil) 445-446, 449, 453
filogenia 328-330
hospedeiro intermediário do *S. mansoni* no Brasil 37
morfologia 288, 300-302
reprodução 466
resistência e suscetibilidade ao *S. mansoni* 149, 313, 460-461, 476, 488
taxonomia 299-300, 316, 318-321, 323
variabilidade genética 327
Biomphalaria subprona
distribuição geográfica 312
Biomphalaria sudanica
distribuição geográfica 311
filogenia 328-329
Biomphalaria temascalensis
distribuição geográfica 312
Biomphalaria tenagophila
adaptação 465, 467, 470
anatomia 296
competição com outras espécies 472
controle biológico da esquistossomose 512, 515, 523-524
desenvolvimento embrionário de 352-388
detecção de *Schistosoma mansoni* em 338, 394
distribuição geográfica 296, 311, 314, 396-397, 408-412
filogenia 328-330
habitat e distribuição geográfica (Brasil) 471, 476
morfologia 288, 293, 296-297
nomenclatura 296
reprodução 466
resistência e suscetibilidade ao *S. mansoni* 149, 313, 460-461, 476, 488, 512, 514-515, 519
taxonomia 296, 316-320, 322-323
variabilidade genética 324, 326-327
Biomphalaria tenagophila guaibensis
distribuição geográfica 312
taxonomia 318-320
Biomphalaria trigyra
distribuição geográfica 312

biópsia da mucosa retal 903
Bogliolo, Luigi 745
Bordet, Jules Jean Baptiste Vincent 897
Bruck, Carl 897
Buck, Alfred A. 897
Bulininae 286
Bulinus alexandrinus *35*
Bulinus contortus 35, 36, 50
Bulinus dybowski 35
Bulinus innesi 35
Bulinus truncatus ver Bulinus contortus

C

cafeína 233
  efeito morfogenético (*B. glabrata*) 374-383
Cairo Medical School 31-32, 35
calazar 759, 764-765 *ver tb* enterobacteriose septicêmica prolongada
cálculo do Daly (d*isability-adjusted life-years lost*) 658
calicreína 114
canais de cálcio dependentes de voltagem 230-231, 233-234
canal de potássio de grande condutância 233
cDNA-RDA *ver representational difference analysis of cDNA*
células mononucleares do sangue periférico 118, 695, 696, 704-705
Centro de Pesquisa René Rachou 252, 314-315, 322, 395, 524, 530, 817
cercária (*S. mansoni*)
  complexo proteolítico 182-184
  diferenças entre os sexos 58-59
  eliminação 57-58
  eliminação prolongada no hospedeiro intermediário 52, 154, 487
  fixação no hospedeiro definitivo 59-60
  formação e evolução no hospedeiro intermediário 152-155, 487
  funções do glicocálix 53
  invasão do hospedeiro definitivo 59
  localização do hospedeiro definitivo 59
  localização no hospedeiro intermediário 155
  longevidade 59
  mecanismos regulatórios da expressão gênica 269
  metabolismo 163-164, 167-169, 176, 179, 181
  migração no hospedeiro intermediário 155
  morfologia 53-60, 154-155, 538
  movimentos natatórios 59, 90-91
  multiplicação 463
  papilas sensoriais 54-55
  penetração e migração no hospedeiro definitivo 87-101, 120
  perda atrasada da cauda 60
  perda da cauda 92, 95-96, 100, 120
  reprodução 187
  resposta imunológica do hospedeiro definitivo 115-116
  saída do hospedeiro intermediário 155, 443
  sistema de osmorregulação 56
  sistema digestivo 55-56
  sistema nervoso 56
  transição para esquistossômulo 60, 101-102, 120, 161, 184-186
  transição para vida livre 52
Cercaria amplicoecata 538
  morfologia 539-540
Cercaria caratinguensis 334-335, 337, 538
  morfologia 539
Cercaria macrogranulosa 334-335
Cercaria ocellifera 538
  morfologia 539
Cestox® *ver* praziquantel
ciclo da uréia 166
ciclo de Cori 167
ciclo de Krebs 169, 172-176
cimetidina (esquistossomicida) 861
Cinz *ver* Comissão Internacional de Nomenclatura Zoológica
cirrose de Laennec 764-765
cirrose pós-necrótica 764-765
Cisticide® *ver* praziquantel
clivagem
  definição 349
  em espiral 349-351
clonagem posicional 520
Cobbold, Thomas Spencer 33
co-evolução (*Biomphalaria* e *Schistosoma*) 464
Comissão Internacional de Nomenclatura Zoológica 287
complexo *Biomphalaria straminea* 316, 319
complexo *Biomphalaria tenagophila* 320
Conferência de Saúde e Educação Sanitária 1036
Congresso Brasileiro de Hepatologia, IV 745
Consórcio Intermunicipal de Saúde de Serra da Mesa 447
constantes de afinidade dos transportadores 165
contaminação ambiental e transmissão da esquistossomose 969-971
controle (*Biomphalaria*)
  biológico 472-474, 476-477, 512

dificuldades e alternativas 460, 476-478
moluscicidas 470, 474-476
perspectivas 478
controle e profilaxia da esquistossomose
combate ao molusco
controle biológico 472-474, 476-477, 512, 515
dificuldades e alternativas 460, 476-478
esquistossomicidas 861-2
estratégias atuais e perspectivas de controle (Brasil) 996-997
estratégias recomendadas pela OMS 972-978
moluscicidas 470, 474-477
notificação compulsória (Brasil) 816
papel dos municípios (Brasil) 998-1000
perspectivas 772-773
programas oficiais (Brasil) 979-988
vigilância da morbidade em Minas Gerais 816-818
Corbicula fluminea 443, 446-447
corpúsculos polares e biologia do desenvolvimento 350, 352-353
cromatografia 262
cromossomos artificiais de bactérias 250
cromossomos artificiais de levedura 250
Curso de Educação em Saúde, Malacologia e Diagnóstico e Tratamento de Esquistossomose e Geo-Helmintoses 447-448

D

D-glicose 94, 98
Day, H. B. 745
DD *ver differential display*
Departamento Nacional de Endemias Rurais 1033, 1036, 1040
deposição (ovos) *ver* oviposição
dermatite cercariana 689, 742
desaminação (*S. mansoni*) 166
desenvolvimento embrionário (*B. glabrata*)
ovo indiviso 352
primeira clivagem 350, 353
segunda clivagem 350, 353-354
terceira clivagem 350, 354, 365
quarta clivagem 354, 365
quinta clivagem 354, 365
sexta clivagem 354, 355, 365
estádio de 25 blastômeros 355, 365
estádio de 33 blastômeros 355, 366
estádio de 40 blastômeros 355
estádio de 45 blastômeros 355-356, 366
estádio de 64 blastômeros 356, 366
estádio de 83 blastômeros 356, 366-367
primeiro quarteto de micrômeros 357, 366-368, 371
segundo quarteto de micrômeros 359, 366-367, 372
terceiro quarteto de micrômeros 360, 373
quarto quarteto de micrômeros 360, 373
quinto quarteto de micrômeros 360, 373
ação do quadrante D 351
clivagem em espiral 350-351
gastrulação 361, 368
importância do lóbulo polar 351
linhagem celular 351-352
origem do mesoblasto primário 360-361, 365-366
desenvolvimento larvário (*B. glabrata*)
trocófora 361-363, 369
véliger 363-364
desenvolvimento no hospedeiro definitivo (*S. mansoni*)
esquistossômulo pulmonar 106-107, 120
ovo 109-110, 119
transição cercária-esquistossômulo 101-102, 120
transição esquistossômulo-verme adulto 106-107, 109, 112-114
verme adulto 107, 109-110, 112-115
verme imaturo 107, 109, 112-113, 121
desenvolvimento no hospedeiro intermediário (*S. mansoni*)
condições para o desenvolvimento 487
eclosão e evolução do miracídio 149-152, 487
emergência cercariana 155, 157, 443
evolução do esporocisto 152-153, 487
fatores que influenciam o desenvolvimento do parasito 155-157, 464-465, 469
fatores que interferem no processo de infecção 149-151
formação e evolução das cercárias 154-155, 487
penetração miracidiana no hospedeiro 151, 487
transição esporocisto-cercária 152-154, 487
transição miracídio-esporocisto 152, 487
detecção de antígenos circulantes (*Schistosoma spp*.) 908-909
diabetes e esquistossomose 726
diagnóstico da esquistossomose
histórico 897
métodos diretos e indiretos 897-898
perspectivas 917-918
técnicas qualitativas e quantitativas 898-899
validade técnica e aplicabilidade 912-914
diagnóstico imunológico da esquistossomose
classificação das técnicas disponíveis 904

detecção de antígenos circulantes 908-909
diagnóstico da forma aguda 909-910
diagnóstico da forma neurológica 909
enzyme linked imunosorbent assay 907-908
limitações 903-904
reação de imunofluorescência indireta 906
reação intradérmica 905
reação periovular 906
técnicas em desuso 905-906
teste de radioimunoensaio 906
diagnóstico laboratorial e epidemiológico da esquistossomose 972
diagnóstico molecular da esquistossomose
reação em cadeia da polimerase 911-912
diagnóstico parasitológico da esquistossomose
técnicas qualitativas
sedimentação espontânea das fezes 899-900
técnica do formol-éter 900
técnicas quantitativas
biópsia da mucosa retal 903
método de Barbosa 900
método de Bell 900
método de Kato-Katz 901-902, 914-917
diaminodifenilsulfona (esquistossomicida) 840
diapausa (*B. glabrata*)
adaptações fisiológicas 429
caracterização 421, 429-430
distribuição geográfica (Brasil) 425-427
e anidrobiose 429-430
e esquistossomose (Brasil) 430-432
formação de lamelas e emigração da água 421-426
hereditariedade 424
sobrevivência fora d'água 427-430
Dias, Caio Benjamin 744
Didymozoidae 44
differential display 254, 521-523
Digenea 45, 149
Distocide® *ver* praziquantel
Distomum capense 33
Distomum haematobium ver *Schistosoma haematobium*
distribuição geográfica (*Biomphalaria* spp.)
Acre 396, 401, 403
Alagoas 396-398, 401-403
Amazonas 396, 401, 403
Bahia 396-398, 401-404, 408, 410
Ceará 396, 401-402, 404-405
Distrito Federal 396-397, 399, 402, 404, 408, 410
Espírito Santo 396-397, 399, 401, 405, 408, 410
Goiás 396-397, 400-401, 405, 408, 410
Maranhão 396-397, 400-401, 405
Mato Grosso 396, 401, 405
Mato Grosso do Sul 396, 401, 405, 408-410
Minas Gerais 396-397, 400, 402, 405, 408, 410
Pará 396-397, 400, 402, 406
Paraíba 396-397, 400, 402, 406
Paraná 396-397, 400, 402, 406, 408, 410
Pernambuco 396-397, 401-402, 406
Piauí 396-307, 401-402, 407
Rio de Janeiro 396-307, 401-402, 407-408, 411
Rio Grande do Norte 396-397, 401-402, 407
Rio Grande do Sul 396-397, 401-402, 407-409, 411
Roraima 397, 402, 408
Santa Catarina 396, 398, 402, 407-408, 411
São Paulo 396-397, 401-402, 408-409, 411
Sergipe 396-397, 401-402, 408
Tocantins 397, 402, 408
disulfonato-bis-pirocatecol de sódio e antimônio (esquistossomicida) 850
DNA mitocondrial de *S. mansoni* 172, 333-339
DNERu *ver* Departamento Nacional de Endemias Rurais
doença de Katayama *ver* esquistossomose japônica
doença do soro 689 *ver tb* esquistossomose aguda
doenças tropicais
fármacos 235-238
dot hibridização 332
Drepanotrema anatinum 443, 445

E

ECF *ver Eosinophil Chemotatic Factor of Lymphocytes*
educação em saúde (Brasil) 1035-1069
e controle da esquistossomose 1031-1032, 1035-1047
histórico 1031-1046
modelos aplicados 1047-1053
perspectivas 1069-1073
projetos e ações no controle integrado da esquistossomose 1046
revisão crítica de diferentes paradigmas 1047-1053
efeito Doppler 214
efeito Pasteur 173
elastase cercariana 61, 98, 100
eletroforese
na separação de proteínas do *S. mansoni* 262
na variabilidade genética dos moluscos 323
eletroporação 259, 262
Elisa *ver enzyme linked imunosorbent assay*

Embay 8.440 *ver* praziquantel
embrião (moluscos)
definição 352
formação do genoma 350
embriologia *ver* biologia do desenvolvimento
emergência cercariana 155, 157
encefalomielite auto-imune experimental e esquistossomose 726
endômeros 356, 359-360, 366-367
Enerpeixe S.A. 436-437, 447
enterobacteriose septicêmica prolongada 736, 747, 759-760, 764, 796-798 *ver tb* calazar e febre tifóide
enzyme linked immunosorbent assay 31, 332, 497, 800, 904, 907-910
Eosinophil Chemotatic Factor of Lymphocytes 116
Eosinophil Stimulation Promoter 116
epidemiologia da esquistossomose (Brasil) 995-1000
Pernambuco 1001-1003
Escherichia coli 759, 793 *ver tb Schistosoma mansoni* e *E. coli*
esclerose glomerular *ver* glomerulopatia esquistossomótica
ESP *ver Eosinophil Stimulation Promoter*
espectrometria de massa 523
para identificação de proteínas do *S. mansoni*, 262
esplenectomia 707
esplenite reacional 549
esplenomegalia 551-552, 557-558, 561
esporocisto (*S. mansoni*)
evolução no hospedeiro 152-153, 487
mecanismos regulatórios da expressão gênica 269
metabolismo 173, 174
migração no hospedeiro 152, 487
morfologia e fisiologia 152-153
transição para cercária 152-154, 487
esporocisto I *ver* esporocisto primário
esporocisto mãe *ver* esporocisto primário
esporocisto primário (*S. mansoni*)152, 154, 156, 487
morfologia 51
regulação da função muscular pela serotonina 52
esporocisto secundário (*S. mansoni*) 152, 154, 487
desenvolvimento no hospedeiro 52
heterogeneidade genética 52
modificações anatômicas 52
morfologia 52
esporocistos replicadores (*S. mansoni*)
eliminação prolongada de cercárias 52
esquistossomicidas 22, 24, 70, 208, 222, 235-239, 661, 666, 673, 797, 801, 828, 830, 836, 858-859, 862
arteméter 838-839, 856-7
artemisina 838, 856-857
artesunato 838-9, 856-857, 860
cimetidina 861
diaminodifenilsulfona 840
disulfonato-bis-pirocatecol de sódio e antimônio 850
gluconato de antimônio e sódio 850
hycanthone 841, 851-852, 857, 861, 973, 982
lovastatina 840
lucanthone 825, 841, 850-851
mevinolina 840
miconazol 861
nicarbazin 839-840
niridazol 841, 850, 852, 857
oxamniquine 188, 600, 772, 824-825, 833-835, 837-839, 841-842, 851-853, 860, 975-976, 980-984, 1010
praziquantel 123, 176, 213, 215, 217, 231-232, 237, 600, 772, 813, 835-842, 853-856, 860-861, 976-978, 981, 984, 1010
tartarato de antimônio e sódio 850
thiosinamina 840
tiomalato de antimônio e sódio 850
esquistossomose
África 34
anatomia patológica 875-876
áreas de maior prevalência no Brasil 487
áreas endêmicas em Minas Gerais 816
associação com outras doenças 561
caráter tropical 157
China 32, 35
conceituação 740
diagnóstico 761-766, 897-918
diferenciação entre doença e endemia 967-968
Egito 31-32, 34
epidemiologia e controle 430-432, 772-773
evolução clínica 766-772
fase crônica 744-772
fase inicial ou aguda 741-744
fatores sócio-econômicos 461-463
fisiopatologia 873-875
forma toxêmica *ver* esquistossomose aguda
formas anatomoclínicas da 549-554, 744-748
formas ectópicas 563-564
formas tumorais 561-563
genoma 331
histórico 31-37
idade-prevalência 702
incidência geográfica e social (Brasil) 461-462

incidência mundial 462
Índias Ocidentais 34
indicadores epidemiológicos (Brasil) 991-999
Japão 35
número estimado de casos (Brasil) 461, 487
patogenia 556-557
patologia experimental 571-627
Porto de Galinhas (PE) 431-432
profilaxia 123-124
região Nordeste (Brasil) 430-432
terapêutica 123-124, 824-842, 850-863
transmissão 34-35
tratamento cirúrgico 879-887
em usinas hidrelétricas (Brasil) 436-437, 447-455
Venezuela 37
esquistossomose aguda *ver tb* doença de Katayama e doença do soro
classificação 744
diagnóstico 761, 909-910
formas clínicas 744
idade-prevalência 690, 741
manifestações anatomoclínicas 688-691, 734-735, 741-744
período pós-patente 689, 691
período pré-patente 688-690
prognóstico 691, 744
resposta imune 691-697
terapêutica 735
esquistossomose crônica
classificação 744-748
diagnóstico 761-766
enterobacteriose septicêmica prolongada 759-760
esquistossomose pulmonar 753-756
evolução 767-772
forma hepatoesplênica 749-752, 768-772
forma hepatointestinal 748-749, 767-768
forma panvisceral 759
forma pseudoneoplásica 756-757
forma tumoral *ver* forma pseudoneoplásica
nefropatia esquistossomótica 758-759
neuroesquistossomose 757-758, 808-818
resposta imune 691-697, 702-710
esquistossomose e doenças associadas
aids 719-720, 761, 799-801
asma 727, 801,
atopia 801
diabetes 726
encefalomielite auto-imune experimental 726
hepatite B 760-761, 798
hepatite C 720, 760-761, 798-799
malária 724-725
mielopatia associada ao HTLV-1 720-722
tuberculose 755
esquistossomose e infecções bacterianas
abscesso hepático piogênico 790, 792-796
salmonelose septicêmica *ver* enterobacteriose septicêmica prolongada
esquistossomose hematóbia 31
esquistossomose hepatoesplênica
diagnóstico 750-752, 764-765
evolução 768-772
glomerulopatia 735-736
idade-prevalência 752
imunocomplexos circulantes 734
manifestações anatomoclínicas 749-752
prognóstico 886-887
resposta imune 702, 704-710
esquistossomose hepatointestinal 702, 709
classificação 749
diagnóstico 762-764
evolução 767-768
manifestações anatomoclínicas 748-749
resposta imune 705-706
esquistossomose intestinal *ver* esquistossomose hepatointestinal
esquistossomose japônica 35, 689, 744, 756-757 *ver tb* esquistossomose aguda
esquistossomose pulmonar 753-756
esquistossômulo (*S. mansoni*)
capacidade de migração 110
desenvolvimento no hospedeiro 106-107, 109, 112-114, 120
formação do canal ginecóforo 63
gametogênese 63
metabolismo 167, 169, 180, 184-186
migração cutânea 61-62
migração no hospedeiro 102-112, 120-121, 124
migração pelo sistema porta-hepático 62
migração pulmonar 62
morfogênese do tegumento 61
morfologia 60-63
organogênese 63
resposta imunológica do hospedeiro 103-104, 116-117
sistema reprodutor 63
transição da forma pulmonar para a hepática 62
transição para vermes adultos 63
tubo digestivo 61

Estação Ecológica do Taim (RS)
estado nutricional e patologia da esquistossomose
efeitos do *Schistosoma* em modelos experimentais 663-672
efeitos do *Schistosoma* na saúde do homem 659-663, 672
estivação *ver* anidrobiose
ESTs (Etiquetas de Seqüências Expressas) 163, 166-167, 174, 178, 181, 220, 233-234, 252-255, 339, 519, 523
Etrenol® *ver* hycanthone
expressão diferencial de genes (*S. mansoni*) 265-266
expressão gênica, métodos de estudo da (*Biomphalaria*)
análise seriada da expressão gênica 523
cDNA-RDA 521
differential display 254, 521-523
hibridização subtrativa 521

F

Faculdade de Medicina de Pequim 744
Fairley, Neil Hamilton 744
Farmanguinhos *ver* Instituto de Tecnologia em Fármacos
FaRPs 219, 225-226
Fasciola hepática 443, 453
fator de crescimento derivado de plaquetas 703-704
fator de crescimento para fibroblastos 703
fator de necrose tumoral-alfa 688, 691-2, 695-6, 703, 706, 733-5
fator de transformação do crescimento 703
fator inibitório derivado do esquistossomo 118
fatores de transcrição de genes 268-269
Faust, Ernest Carroll 746
febre do rio Yangtze *ver* esquistossomose aguda
febre tifóide 561, 759 *ver tb* enterobacteriose septicêmica prolongada
FGF *ver* fator de crescimento para fibroblastos
fêmeas de Cardiff 190
fenômeno de Hoepli 549, 616
fibronectina 103
fibrose de Symmers 551-552, 554, 556-558, 564, 709, 734-735, 747, 749, 762-763, 765, 769, 771
classificações ultra-sonográficas de 933-940
importância da ultra-sonografia no diagnóstico de 929-932
modelos experimentais 573-574
padrões 941
fibrose periportal *ver* fibrose de Symmers
fibrose *pipe stem ver* fibrose de Symmers
Filaria wucherer ver *Wuchereria bancrofti*
fisiopatologia da esquistossomose 873-875
formas anatomoclínicas da esquistossomose
aguda 549-550
crônica 550
grave ou avançada 551-552
habitual ou leve 550-551
hepática avançada 551-552
hepatoesplênica 549, 550-562, 564
fosforilação oxidativa 173, 175-176
fosforilase 172
Frescon® *ver* N-tritilmorfolina 474
FSESP *ver* Fundação Serviço Especial de Saúde Pública
Fujii, Yoshinao 744
Fujinami, Kan 35, 897
Funasa *ver* Fundação Nacional de Saúde
função gênica (*Schistosoma*) 255-263
Fundação Nacional de Saúde 432, 447, 816-817, 981, 984-985, 988, 998, 1043
Fundação Rockefeller 1034
Fundação Serviço Especial de Saúde Pública 981, 1033-1034, 1036
Furnas Centrais Elétricas 436-437, 447

G

Garcia, Angelina 1033-1034
Gasp 118
gastrulação 349, 352, 361, 368
GenBank 250, 330, 339
Gengou, Octave 897
genoma da esquistossomose 331
genoma (*B. glabrata*) 331-332, 339
genoma (*S. mansoni*) 163, 178, 187, 245, 247-271, 331
genoma mitocondrial (*S. mansoni*) 176, 248, 250-251
Genoscope 250
Girges, Rameses 745
glicogenólise 171-173
glicólise 166-173, 175, 178-179
aeróbica 168
anaeróbica 164, 170, 173-174
gliconeogênese 167, 168
glomerulonefrite membranoproliferativa *ver* glomerulopatia esquistossomótica
glomerulopatia esquistossomótica 548, 558-560, 731, 735-737, 747, 758-759, 765
gluconato de antimônio e sódio (esquistossomicida) 850
glutationa-S-transferase 259, 725, 1012, 1014-1016
granuloma esquistossomótico
e telomerase 601-603
fases entrópica e neguentrópica 577, 582, 595
hepático 587-605

sistema biológico complexo e modelagem matemática 576-587
teleologia ou finalidade 608
granuloma hepático
repercussão funcional 603-604
vascularização 605
granuloma hepático, modulação do
ação das adipocinas 598
ação das células B 589-590
ação das células T e células dendríticas 588-589
ação das citocinas 591-592
ação dos eosinófilos, interleucina-5 e interleucina-13 592-594
apoptose 594-595
diferenças nas fases aguda e crônica 588
influência de fatores congênitos via placenta e aleitamento 600-601
influência do ambiente ou do órgão 598-600
participação de neuropeptídeos 595-598
respostas Th1-Th2 e fatores de transcrição 590-591
granuloma periovular *ver* granuloma esquistossomótico
grau de fibrose avaliado pela ultra-sonografia
estudos epidemiológicos e evolutivos 945-947
estudos evolutivos após tratamento da esquistossomose 947-948
Griesinger, Wilhelm 32, 36

H

hapteno trinitrofenol 116
Hayami, T. 897
HBV *ver* vírus B da hepatite
HCV e *Schistosoma mansoni*, co-infecção por 720, 790, 798-799
Helisoma duryi 472
Helisoma trivolvis 472
helmintos
classificação 45
hematúria 31-32, 36
hepatite *ver* esquistossomose e doenças associadas
hepatite B e esquistossomose 760-761, 798
hepatite C e esquistossomose 720, 760-761, 798-799
hepatite reacional 549
hepatite viral 561
Heródoto 31
hexabutildistanoxano (moluscicida) 474
hibridização subtrativa 521
hidróxido de cálcio (moluscicida) 474
hipersensibilidade imediata 692-693
hipersensibilidade retardada 702-703, 791-792
Hipócrates 31
história da educação em saúde no Brasil e o combate à esquistossomose 1031-1046
hit ver molécula ativa inicial
HIV e *Schistosoma mansoni*, co-infecção por 719-720, 790, 799-801
HLA-DR 708, 733
HMG 247
Hollanda, Hortênsia de 1033-1034, 1038, 1069
Homero 31
hospedeiros experimentais de *S. mansoni* 302-305
Houghton, Henry S. 744
hospedeiros intermediários de *S. mansoni* 310
biologia molecular aplicada ao estudo dos 314-339
distribuição geográfica (Brasil) 394-416
importância epidemiológica 311-314
HSP70 101-102, 260, 264-265, 269, 1011
HTLV-1 e *Schistosoma mansoni*, co-infecção por 720-722
Hubendick, Bengt 287
hycanthone (esquistossomicida) 841, 851-852, 857, 861, 973, 982

I

IC *ver* imunocomplexos circulantes
ICAM *ver* molécula de adesão celular
imunidade concomitante 1011
imunidade protetora contra esquistossomose 1011-1014, 1018-1022
imunocomplexos circulantes 688, 693-696, 733-735
indicadores epidemiológicos da esquistossomose (Brasil)
internações hospitalares 991-993
mortalidade 993-996
percentual de portadores de *S. mansoni* nos estados 991
prevalência e positividade da infecção 988-991
prevalência por estado 979-980, 989-999
índice cercariano 58
Indoplanorbis 286
Institute for Genomic Research 250, 252, 271
Instituto Aggeu Magalhães (Departamento de Parasitologia) 447
Instituto de Tecnologia em Fármacos 853
Instituto Oswaldo Cruz (Departamento de Biologia) 447
Instituto Oswaldo Cruz (Laboratório de Malacologia) 436-437, 443, 449, 455
intravasão (*S. mansoni*) 103-104, 120, 124
IrV5 *ver* miosina

K

Katayama nosophora ver Oncomelania nosophora
Koppisch, Enrique 745

L

Laboratórios Pfizer Ltda. 833, 850-851
Lambert, Alexander C. 744
larva (moluscos)
  definição 352
Leiper, Robert Thomson 29
leishmaniose visceral *ver* calazar
leucemia 764-765
L'Hermenier de Charleston 291-292
linfoma 764-765
linfoma esplênico de tipo nodular 558, 560-561
lipídeos
  metabolismo 177-181
lóbulo polar no estudo da biologia do desenvolvimento 351-353
Looss, Arthur 29, 37, 897
Lortet, Louis-Charles Émile 34
lovastatina (esquistossomicida) 840
LS-PCR *ver* reação em cadeia da polimerase em baixa estringência
lucanthone (esquistossomicida) 825, 841, 850-851
Lutz, Adolpho 29, 897
Lymnaea columella 443-444, 453, 465, 470

M

Mackie, James 33
macrômeros 352, 354-356, 360-361, 364
malária 764-765
malária e esquistossomose 724-725
Malek, Emile Abdel, 287
Mansil® *ver* oxamniquine
Manson, Patrick 29, 33-36, 897
má-nutrição e patologia da esquistossomose 657-678
mapeamento genético (*Biomphalaria*) 515
  mapa de ligação 516
  mapeamento de QTL 516-517
mapeamento genético, técnicas de (*Biomphalaria*)
  clonagem posicional 520
  etiquetas de seqüências expressas 519, 523
  microsatélites ou polimorfismo no comprimento de seqüências simples 517-518
  polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados 519
  polimorfismo de DNA amplificado ao acaso 518-519
  polimorfismo de nucleotídeo único 519-520
marcadores genéticos polimórficos 257-259
Martius, Carl Friedrich Philip Von, 292
Meira, João Alves 745, 747
Melo, Joaquim Cardoso de 1033
Merck S.A. 835, 850, 853, 855
metabolismo (*S. mansoni*) 163-164
  glicoconjugados 181
  glicólise 166-170
  metabolismo de lipídeos 177-181
  metabolismo de nucleotídeos 176-177
  metabolismo do glicogênio 170-172, 178, 183, 185
  metabolismo oxidativo 172-175
  transporte de elétrons e fosforilação oxidativa 175-176
  transporte de glicose 164-165
  transporte e metabolismo de aminoácidos 166
metaldeído (moluscicida) 474
método de Barbosa 900
método de Bell 900
método de Kato-Katz 901-902, 914-917, 972
mevinolina (esquistossomicida) 840
miconazol (esquistossomicida) 861
microarray 519, 521, 523
micrômeros 351, 354-357, 360, 364
  notação para gerações sucessivas de 352
microssatélite 257-258, 327
mielopatia associada ao HTLV-1 e esquistossomose 720-722
migração do *S. mansoni* no hospedeiro definitivo 86, 121-3
  penetração e migração cutâneas
    aspectos anatômicos 95-9, 120
    barreiras 89-90, 98, 100, 103
    duração da penetração 95-6, 120
    fases 90-5, 97
    fatores que estimulam 90-5, 98-9, 103
    fatores que interferem 101, 120
    histologia da pele 88-90, 98
    participação de enzimas proteolíticas 99-101
    perda da cauda pelas cercárias 92, 95-6, 100, 120
    resposta imunológica do hospedeiro 96
    sítios de entrada 97
    tempo de permanência na pele 95-6, 120
  migração pelo sistema circulatório
    barreiras 103
    estímulos 102-3
    invasão vascular 103-4, 120, 124

migração linfática 102, 104-5
migração venosa 102-4
reação imunológica do hospedeiro 103-4
migração pelo sistema porta-hepático
alojamento no fígado 110, 112, 121
parada nos vasos portais 109, 121, 124
sítios de atrito e de eliminação 111-2
vias migratórias 107-9, 124
migração pelos pulmões 105-7, 120-1
período de permanência nos pulmões 105-6, 121
Minas Gerais
áreas endêmicas 816
controle da esquistossomose 816-818
miosina 1013-1014, 1018-1019
miracídio (*S japonicum*) 35
miracídio (*S. mansoni*)
atração específica pelo hospedeiro 50-51
capacidade infectante segundo o sexo 51
eclosão 149
fototaxia 151
fototropismo 49
infectividade 50
longevidade no ambiente 50
metabolismo 163, 172-173, 178, 184
morfologia e fisiologia 49-50, 149-150
movimentos ciliares 50
penetração e evolução no hospedeiro 51, 151-152, 487
quimiocinese 150
quimiotaxia 150
reprodução 187
tempo de vida 150
transição para esporocisto 51, 152, 487
miracil D *ver* lucanthone
mirasan ver oxamniquine
modelo epidemiológico da esquistossomose 969
modelo termodinâmico de interação celular 580
modelos de educação em saúde 1047-1048
empoderamento 1049-1050
mudança de comportamento 1048-1049
orientação comunitária 1051
planejamento precede-procede 1050-1051
transformação social 1051-1053
modelos experimentais no estudo da esquistossomose
limitações metodológicas 571-572
limitações conceituais 572
molécula ativa inicial 235, 238
molécula de adesão celular 581, 703
Moluscário Lobato Paraense 530
moluscicidas 470, 474-477
hexabutildistanoxano 474
hidróxido de cálcio 474
metaldeído 474
niclosamida 431, 474-475, 973, 983-986
N-tritilmorfolina 474
pentaclorofenato de sódio 474
termofosfato magnesiano 474
moluscos
desenvolvimento embrionário 349-388
diagnóstico de infecção por *S. mansoni em* 332-339
infecção experimental por *S. mansoni* 532-534
maturação do ovo e fertilização 349-350
métodos de criação em laboratório 530-532
captura 540
dissecação 544
embalagem 541
fixação 541-543
técnicas de estudo em laboratório 534-536
moluscos límnicos
coleta 440-441, 443
e plantas macrófitas 449
em usinas hidrelétricas (Brasil) 436-437, 440-441, 443-447, 449-455
monogamia (*S. mansoni*) 113
motilidade no verme adulto (*S. mansoni*)209-238
movimentos de encurtamento do verme adulto (*S. mansoni*) 215, 231
movimentos natatórios de propulsão retrógrada (*S. mansoni*) 90-91
movimentos ondulatórios do verme adulto (*S. mansoni*) 214, 218
movimentos peristálticos do verme adulto (*S. mansoni*) 214, 217-219, 223
mRNAs *ver* RNA mensageiro
mtDNA de *S. mansoni ver* DNA mitocondrial de *S. mansoni*
multiplex-PCR 335-338
musculatura circular (*S. mansoni*) 211-212, 214, 219, 220
musculatura longitudinal(*S. mansoni*) 211-212, 214-215, 219-221, 231
musculatura somática (*S. mansoni*) 215, 219, 226, 229-230

N

Naids (*Nutritionally Acquired Immune Deficiency Syndromes*) 674
Nakamura, Hachitaro 897

nefropatia esquistossomótica *ver* glomerulopatia esquistossomótica
nefropatia parasitária 559
Neisser, Albert Ludwig Sigesmund 897
nested PCR 332-333
neuroesquistossomose 564
Brasil 809
classificação
forma cerebral 757
mielorradiculopatia esquistossomótica 757
diagnóstico 758, 765-766, 812-813, 909
em áreas endêmicas de Minas Gerais 817-818
etiologia 809
freqüência 757
história 809
idade-prevalência 757
patogenia 809-810
patologia e manifestações clínicas 757-758, 810-812
prognóstico 816
tratamento 758, 813-814, 816
neurotransmissores (*S. mansoni*) 218-227, 238
Neves, Jaime 745
nicarbazin (esquistossomicida) 839-840
niclosamida (moluscicida) 431, 474-475, 973, 983-986
niridazol (esquistossomicida) 841, 850, 852, 857
Northern blot 168, 521
N-tritilmorfolina (moluscicida) 474

O

OMS *ver* Organização Mundial de Saúde
Oncomelania nosophora 46
ondas peristálticas *ver* movimentos peristálticos do verme adulto
Opas *ver* Organização Pan-Americana da Saúde
Open Reading frame ESTs 254-255
Orestes *ver Open Reading frame ESTs*
Organização Mundial da Saúde 235, 253, 447, 747-8, 767, 824, 854, 861-886, 1010
histórico das estratégias de controle da esquistossomose mansoni 972
década de 1950, 973, 978
década de 1960, 973-974, 978
década de 1970, 974-975, 978
década de 1980, 975-976, 978
década de 1990, 976, 978
anos 2000, 977-978
Organização Pan-Americana da Saúde 816
Orientobilharzia 46
oviposição (*Biomphalaria*) 466
oviposição (*Orientobilharzia*) 110, 112-113, 119
oviposição (*S. mansoni*) 73, 110, 112-3, 119
ovo (*S. haematobium*) 32-34
ovo (*S. japonicum*) 35
ovo (*S. mansoni*)
composição 48
desenvolvimento no hospedeiro definitivo 109-110, 119
eliminação pelo hospedeiro 119, 121
embriogênese 119, 121
evolução no hospedeiro 48
morfologia 48-49, 119
quantidade diária depositada pela fêmea 119, 121
resposta imunológica do hospedeiro 119
sobrevida no ambiente 49
oxamniquine (esquistossomicida) 188, 600, 772, 824-825, 833-835, 837-839, 841-842, 851-853, 860, 975-976, 980-984, 1010
oxidação fosforilativa 167, 175-176

P

Paraense, Wladimir Lobato 315
paramiosina 96, 118, 1011-1013, 1015, 1016, 1018
paraparesia espástica tropical *ver* mielopatia associada ao HTLV-1
Parpacén, Joel Valencia 745
patologia da esquistossomose e má-nutrição
efeitos da má-nutrição do hospedeiro sobre o *S. mansoni* 672-674
efeitos do *Schistosoma* no estado nutricional e saúde do hospedeiro 658-672
histórico 657
perspectivas 676-678
resposta imune 674-675
patologia da esquistossomose humana
associação com outras doenças 561
complicações 558-561
esplenomegalia 557-558
formas anatomoclínicas da esquitossomose 549-554
formas ectópicas 563-564
formas tumorais 561-563
lesões vasculares no fígado 554-556
neuroesquistossomose 564
patogenia 556-557
patologia experimental da esquistossomose
animais empregados 571
estudo das alterações vasculares 574-576, 621-623

fibrose de Symmers em modelos experimentais 573-574
limitações dos modelos experimentais 571-572
modulação do granuloma hepático 587-601
órgãos envolvidos na infecção esquistossomótica 573
patologia extra-hepática 608-620
perspectivas 623-627
significado do pigmento esquistossomótico 605-607
teoria dos SACs para o estudo do granuloma esquistossomótico 576-587
patologia extra-hepática da esquistossomose
intestino 608-615
pâncreas 616-619
pulmões 615-616
rins 620
sistema nervoso central 620
PBMC *ver* células mononucleares do sangue periférico
PCR *ver* reação em cadeia da polimerase
PCR espécie-específica 322
PCR-RFLP 317, 319, 321, 322
PDGF *ver* fator de crescimento derivado de plaquetas
Pece *ver* Programa Especial de Controle da Esquistossomose
pele, histologia da 88-90, 98
Pellon, Amilcar Barca 979, 1031
pentaclorofenato de sódio (moluscicida) 474, 984
perda tardia da cauda (cercárias) 95-96
período pós-patente (esquistossomose aguda) 689, 691-692
período pré-patente (esquistossomose aguda) 688-689, 691-692, 695
peristaltismo *ver* movimentos peristálticos do verme adulto
Pessoa, Samuel Barnsley 747
Pfizer *ver* Laboratórios Pfizer Ltda.
Pinto, Cesar 745
Pirajá da Silva, Manoel Augusto *ver* Silva, Manoel Augusto Pirajá da
placa apical (moluscos) 361-364, 369, 374-376
placas cefálicas (moluscos) 362-364, 368, 374-376
Planorbidae 286, 328, 421
planorbídeos
Brasil 37
morfologia 288-291, 292-295, 296-298, 300-305
Planorbis boissyi ver Biomphalaria alexandrina
Planorbis centimetralis ver Biomphalaria straminea
Planorbis guadaloupensis ver Biomphalaria glabrata
Planorbis mareoticus 35
Planorbis olivaceus ver Biomphalaria glabrata
Plasmodium e *Schistosoma mansoni*, co-infecção por 724-725
Plathyhelminthes 46
pneumopatia esquistossomática com *Cor Pulmonale* 548, 558-559
polimorfismo de base única 257-259
polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados 519
polimorfismo de DNA amplificado ao acaso 518-519
polimorfismo de nucleotídeo único 519-520
polimorfismo de tamanho de fragmento de restrição 314, 316, 318, 320, 324, 515, 519
polimorfismo no comprimento de seqüências simples 517-518
pólo animal do ovo (*B. glabrata*) 350-351, 353-354, 356, 359, 361, 376
pólo vegetativo do ovo (*B. glabrata*) 351, 354-356, 359, 361
postura (ovos) *ver* oviposição
Prata, Aluízio 745
praziquantel (esquistossomicida) 123, 176, 213, 215, 217, 231-232, 237, 600, 772, 813, 835-842, 853-856, 860-861, 976-978, 981, 984, 1010
prednisona (esquistossomicida) 813-814
preparação antigênica de verme adulto 118-119, 693-696, 907
processamento proteolítico pós-traducional 269-270
Programa de Educação em Esquistossomoses (Brasil) 1073
programa de educação sanitária (Brasil) 1037
Programa Especial de Controle da Esquistossomose (Brasil) 853, 862, 975, 979-981, 983-985, 991, 1003, 1040, 1043, 1049, 1055
controle dos moluscos vetores 984-988
controle quimioterápico 981-984
Programa Nacional de Controle da Esquistossomose (Brasil) 767, 816
protease cercariana *ver* elastase cercariana
proteases e ciclo do *S. mansoni* 181-182, 184
enzimas digestivas (hemoglobinase) 184
escape do parasito 185-187
outras proteases e peptidases 184
penetração da cercária na pele do hospedeiro 182-184
transformação da cercária em esquistossômulo 184-185
proteína ligante de ácido graxo 1018-1019
proteômica (*S. mansoni*) 262-263
Protocolo do Cairo 748, 935-938, 943-947, 950-951

Protocolo de Managil 934, 938, 946, 950-951
Protocolo de Niamey 748, 938-940, 942-945, 952
prototroco (*B. glabrata*) 359, 362-363, 369, 374-375
formação 361-362
Pyquiton® *ver* praziquantel

Q

QTL *ver Quantitative Trait Loci*
Quantitative Trait Loci 515-517, 520
quarteto de micrômeros
definição 352
primeiro 351, 354-357, 362, 364, 371, 374
estádio de cruz 357-358, 366-368
segundo 354-356, 359, 362, 364, 366-367, 372, 374
terceiro 356, 360, 364, 373
quarto 356, 360, 373

R

random amplified polymorphic DNA analysis 317, 326-327, 518-519
Rapd *ver random amplified polymorphic DNA analysis*
reação de imunofluorescência indireta 906
reação em cadeia da polimerase 58, 310, 314-319, 322, 325, 327, 332, 338, 515, 518-519, 521-522, 911-912
reação em cadeia da polimerase com iniciadores arbitrários 325-326, 521
reação em cadeia da polimerase em baixa estringência 317, 323, 333-335, 339
reação granulomatosa 576-608, 702-704, 706, 709, 732-734
reação imunológica do hospedeiro definitivo ao *S. mansoni*
papel da paramiosina 96, 118
resposta celular nos diferentes estágios evolutivos
cercária 115-116
esquistossômulo 103-104, 116-7
ovo 119
verme adulto 117-9
reação intradérmica 905
reação periovular 906
Rede Genoma de Minas Gerais 163, 255
regulação gênica (*S. mansoni*) 263-267
representational difference analysis of cDNA 521
resposta imune
esquistossomose aguda 691-697
esquistossomose crônica 702-710
esquistossomose e aids 719-720
esquistossomose e asma 727, 801
esquistossomose e diabetes 726
esquistossomose e encefalomielite auto-imune experimental 726
esquistossomose e hepatite C 720
esquistossomose e malária 724-725
esquistossomose e mielopatia associada ao HTLV-1 720-722
modulação pelo *S. mansoni* nas infecções virais 719-720
regulação pelo *S. mansoni* nas co-infecções 718-728
RFLP *ver* polimorfismo de tamanho de fragmento de restrição
reprodução (*S. mansoni*)
amadurecimento sexual e mediadores químicos 187
aspectos moleculares da interação macho-fêmea 191-192
desenvolvimento da fêmea 187-190
desenvolvimento do macho 191
formação do ovo 190-191
rio Paraguai (Brasil)
usinas hidrelétricas 438
rio Tocantins
usinas hidrelétricas 438
RNA de interferência 124
RNA mensageiro 191, 253, 258, 261, 263, 268-270, 515, 520-521, 523
RNA ribossomal
importância para estudos filogenéticos 315, 316, 329
Rodriguez, J. M. R. 745
RT-PCR semiquantitativa 522
Ruffer, Marc Armand 897

S

Sadun, Elvio H. 897
Sage *ver* análise seriada da expressão gênica
Salmonella e *Schistosoma mansoni*, co-infecção por 796-797, 800
Salmonella typhi 760
salmonelose septicêmica prolongada *ver* enterobacteriose septicêmica prolongada
Salvinia auriculata 449-450
Sambon, Louis W. 34, 36
Sanger Centre 250, 271
Schistosoma
acasalamento permanente 47
ciclo evolutivo 34-36
co-evolução com Biomphalaria 464
evolução em hospedeiros invertebrados 34-35

evolução em hospedeiros vertebrados 34-36
filogenia 46
função gênica 255-263
gêneros de hospedeiros intermediários 45
grupo haematobium 45
grupo indicum 46
grupo japonicum 45
grupo mansoni 46
taxonomia 45
Schistosoma americanum ver Schistosoma mansoni
Schistosoma bovis 45
desenvolvimento da fêmea 187
metabolismo 164-165, 171
reprodução 187
Schistosoma edwardiense 46
Schistosoma Genome Network 253
Schistosoma haematobium 45
descrição por Bilharz 32-33
descrição por Manson 33-34
desenvolvimento da fêmea 187
desenvolvimento do macho 191
metabolismo 164-165, 171, 178
morfologia 32-33
ovo 32-34, 36
papel na neuroesquistossomose 808-810
reprodução 187
Schistosoma hippopotami 46
Schistosoma incognitum 46
Schistosoma indicum 46
Schistosoma intercalatum 45
Schistosoma japonicum
cercária 35
ciclo evolutivo 35
desenvolvimento da fêmea 187
desenvolvimento do macho 191
esporocisto 35
esquistossomose aguda 688, 744
formação do ovo 191
histórico 35
metabolismo 165, 170, 172, 174, 180-181
miracídio 35
ovo 35
papel na neuroesquistossomose 808-811
Schistosoma leiperi 45
Schistosoma malayensis 45
Schistosoma mansoni
acasalamento 109, 113, 121
adaptação a hospedeiros definitivos 44, 46
amadurecimento da fêmea 113-114
bioquímica do 63-192
canal ginecóforo 36, 45, 47, 63-64, 66-67, 113, 115, 124, 165, 211-212, 215, 226
co-evolução com *Biomphalaria* 464
co-evolução com hospedeiros pecilotérmicos ou homeotérmicos 46
co-infecção com outros helmintos 723-724
condições para o desenvolvimento no hospedeiro intermediário 487
desenvolvimento da fêmea 187-190
desenvolvimento do macho 191
desenvolvimento no hospedeiro definitivo 86, 101-102, 106-107, 109-110, 112-115, 119-124
desenvolvimento no hospedeiro intermediário 149-157, 443, 464-465, 469, 487
dimorfismo sexual 44
distribuição geográfica 46
estágios evolutivos no hospedeiro definitivo 87
estrutura molecular 181-187
filogenia 31, 46-47
formação do ovo 190-191
genoma 163, 178, 187, 245, 247-271, 339
histórico 31-37
hospedeiros intermediários e definitivos 37, 46
infectividade 513
manutenção do ciclo em laboratório 532-538, 826-827
metabolismo 163-181, 185
migração no hospedeiro definitivo 86, 88-112, 121-124
modulação da resposta imune em infecções virais 719-720
monogamia 113
neurotransmissores e atividade motora 218-227, 238
oviposição 73, 110, 112-113, 119
ovo 34
proteases e suas funções biológicas 181-187
reação imunológica do hospedeiro definitivo 96, 103-104, 115-119
regulação da resposta imune nas co-infecções 718-728
reprodução 187-192
reprodução assexuada 463
resistência a esquistossomicidas 840-842, 857-859
sistema muscular 211-212
sistema nervoso 209-211, 219, 221, 238
taxonomia 149
tempo de permanência no hospedeiro definitivo 124

transcriptoma 163, 166-167, 172, 174-175, 177-179, 181, 233, 234, 248, 251-255, 259
Schistosoma mansoni e *Ancylostoma duodenale*, co-infecção por 723
Schistosoma mansoni e *Ascaris lumbricoides*, co-infecção por 723
Schistosoma mansoni e *Escherichia coli*, co-infecção por 797-798
Schistosoma mansoni e HCV, co-infecção por 720, 790, 798-799
Schistosoma mansoni e HIV, co-infecção por 719-720, 790, 799-801
Schistosoma mansoni e HTLV-1, co-infecção por 720-722
Schistosoma mansoni e *Plasmodium*, co-infecção por 724-725
Schistosoma mansoni e *Salmonella* co-infecção por 796-797, 800
Schistosoma mansoni e *Staphylococcus aureus*, co-infecção por 795-796
Schistosoma mansoni e *Trichuris muris*, co-infecção por 723-724
Schistosoma mansoni e vírus da hepatite B, co-infecção por 790, 798
Schistosoma margrebowiei 45
Schistosoma mattheei 45
desenvolvimento da fêmea 188
Schistosoma mekongi 45
Schistosoma nasale 46
Schistosoma rodhaini 46
Schistosoma sinensium 45
Schistosoma spindale 46
Schistosomatidae
diferenças para outros trematódeos 45
filogenia 46-47
transição de hermafrodita para dióico 46-47
Schistosomatium douthitti
desenvolvimento da fêmea 188
Schistosomatoidea 45
SDIF *ver* fator inibitório derivado do esquistossomo
SEA *ver* antígeno solúvel do ovo
Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais 817
Secretaria de Estado de Saúde de Goiás 447
sedimentação espontânea das fezes 899-900
sepse e esquistossomose aguda 689, 697
seqüenciamento nucleotídico, 322, 329
Serviço Nacional de Educação Sanitária (Brasil) 1035
Shim Poong Pharmaceutical Company 853
Siebold, Carl Theodor 32, 34
Silva, José Rodrigues da 744-746
Silva, Manoel Augusto Pirajá da 5, 29, 36-37, 897
Simpson, Andrew J. G. 314
Sinan *ver* Sistema Nacional de Agravos de Notificação
síndrome de Löffler 742
sistema de defesa interno (*Biomphalaria*) 488-90
componentes solúveis da hemolinfa 494-7
estudos recentes 503
hemócitos 490-4
papel na interação com *S. mansoni* 497-502
sistema do duplo híbrido em leveduras 256
Sistema Nacional de Agravos de Notificação (Brasil) 816
sistemática molecular
estudo de *Biomphalaria* 314-339
Sm14 *ver* proteína ligante de ácido graxo
Sm23 259, 1012, 1014, 1017, 1019
Sm28-GST *ver* glutationa-S-transferase
Sm97 *ver* paramiosina
SNP *ver* polimorfismo de nucleotídeo único
Sonsino, Prospero 33-34, 36
Southern blot 260, 324, 522
Spix, Johann Baptist Von, 292
splicing alternativo 269-270
SSLP *ver* polimorfismo no comprimento de seqüências simples
SSR-PCR, 327-328
Staphylococcus aureus 761, 792-3, 795 *ver tb* *Schistosoma mansoni* e *S. aureus*, co-infecção por
Sterling Winthrop Inc. Company 850
Stibofen® *ver* disulfonato-bis-pirocatecol de sódio e antimônio
Strigeiforme 45
Sucam *ver* Superintendência de Campanhas de Saúde Pública
Sucen *ver* Superintendência de Controle de Endemias do Estado de São Paulo
Sueyasu, Y. 897
Superintendência de Campanhas de Saúde Pública 980-981, 983-985, 988
Superintendência de Controle de Endemias do Estado de São Paulo 524
suscetibilidade de *Biomphalaria* ao *S. mansoni* 465, 476-7
grau de especificidade da interação 486-8
papel do sistema de defesa interno do molusco 497-502
SWAP *ver* preparação antigênica de verme adulto

T

tail-first ver movimentos natatórios de propulsão retrógrada
Tanaka, M. 897

tartarato de antimônio e sódio (esquistossomicida) 850
TBTO® *ver* hexabutildistanoxano
técnica de Fish (*fluorescent in situ hybridization*) 250
técnica de Holmes 352
técnica do formol-éter 900
técnicas de isoenzimas
  estudo de moluscos 314, 316, 321, 323-324, 328-329
Teixeira, Manuel Isnard 979, 1031
Teixeira, Rodolfo 745
telomerase e granuloma 601-603
teoria dos SACs
  propriedades 577
    agregação 580
    diversidade 585-586
    fluência 584-585
    não-linearidade 586-587
  mecanismos 577
    blocos de construção ou montagem 582-583
    modelos internos implícitos e explícitos 582
    rotulagem ou *tagging* 580-581
teoria dos sistemas gerais
  estudo de doenças parasitárias 656
terapêutica clínica e experimental da esquistossomose
  associação de drogas
    objetivos 859
    oxamniquine e praziquantel 837-838, 860
    praziquantel e arteméter 838-839
    praziquantel e artesunato 860
    praziquantel e cimetidina 861
    praziquantel e miconazol 861
  avaliação experimental
    avaliação qualitativa 832
    ensaios não clínicos 830-2
    triagem de drogas *in vitro* 832-3
    triagem de drogas *in vivo* 828-30
  drogas curativas
    oxamniquine 833-5, 851-3
    praziquantel 835-7, 853-6
  drogas profiláticas
    arteméter 838-9, 856-7
    artemisina 838, 856-7
    artesunato 838-9, 856-7
  drogas supressoras
    diaminodifenilsulfona 840
    lovastatina 840
    mevinolina 840
    nicarbazin 839-40
    thiosinamina 840
  histórico 850
  metodologia para manutenção do ciclo de *S. mansoni* em laboratório 826-7
  pesquisa de novos fármacos 825-6
  resistência do *S. mansoni* a esquistossomicidas 840-2, 857-859
  tratamento clínico da hipertensão portal 876-9
termofosfato magnesiano (moluscicida) 474
teste de Pearse 54
teste de radioimunoensaio 906
teste do letal dominante 385, 387, 388
TGF-beta *ver* fator de transformação do crescimento
Thiara granifera 472
Thiara tuberculata 472
thiosinamina (esquistossomicida) 840
Tigr *ver Institute for Genomic Research* 250, 271
tiomalato de antimônio e sódio (esquistossomicida) 850
Tiostam® *ver* gluconato de antimônio e sódio
TNF-α *ver* fator de necrose tumoral-alfa
TNP *ver* hapteno trinitrofenol
TPI *ver* triose-fosfato-isomerase
transcriptoma (*S. mansoni*) 163, 166-167, 172, 174-175, 177-179, 181, 233-234, 248, 251-255, 259
transmissão da esquistossomose
  contaminação ambiental 969-971
  veiculação hídrica 969-971
  vias de contaminação fecal 969-970
trans-splicing 269-270
tratamento cirúrgico da esquistossomose 879-87
Trematoda 45
trematódeos
  de sexos separados 32
  em usinas hidrelétricas (Brasil) 436, 443-4
  hermafroditas 32
trematódeos digenéicos
  forma infectante 45
  hermafroditismo 44
  morfologia 44
Trichuris muris e *Schistosoma mansoni*, co-infecção por 723-4
triose-fosfato-isomerase 166, 1013-1014, 1017
trocófora (moluscos) 352, 361-362, 364, 369-370, 374-376
tuberculose e esquistossomose 755

U

UK-4271 *ver* oxamniquine
ultra-sonografia
  associada ao doppler na esquistossomose mansoni 952-954

avaliação da hipertensão portal 948-951
diagnóstico da fibrose periportal 929-932
e outros marcadores de fibrose hepática 951-952
perspectivas 955
Universidade de Freiburg 32
Universidade de Tübingen 36
Universidade Federal da Bahia 548, 552, 558
Universidade Federal de Minas Gerais 252, 314, 524, 817, 1065
Usina Hidrelétrica de Peixe Angical (AHE Peixe Angical – TO) 436-8, 440, 444, 447, 453
Usina Hidrelétrica de Serra da Mesa (UHSM - GO) 435-439, 442, 444-447, 449, 453-454
Usina Hidrelétrica do Aproveitamento Múltiplo de Manso (APM Manso - MT) 436-439, 444, 447, 449-451
usinas hidrelétricas (Brasil)
impacto ambiental 436-437, 445
malacofauna límnica 437, 440-441, 443-447, 449-455
trematódeos 443-444

V

vacina anti-esquistossomótica 96, 123, 1010
identificação de antígenos 1012-1019
dificuldades e perspectivas 1020-1022
possíveis antígenos 1014
glutationa-S-transferase 259, 725, 1012, 1014-1016
miosina 1013-1014, 1018-1019
paramiosina 96, 118, 1011-1013, 1015, 1016, 1018
proteína ligante de ácido graxo 1018-1019
Sm23 259, 1012, 1014, 1017, 1019
triose-fosfato-isomerase 166, 1013-1014, 1017
Valladares, Antonio do Prado 745
Valladares, Clarival do Prado 745
véliger (*B. glabrata*) 352, 361, 363-364, 369, 375
Venter, J. Craig 252
verapamil 230, 231
verme adulto (*S. mansoni*)
acasalamento 70, 73-74
alterações morfológicas, fisiológicas e comportamentais 70-73
antígenos 118
atividade motora 211, 213-234, 238
desenvolvimento no hospedeiro definitivo 107, 109-110, 112-115
inibição da coagulação sangüínea 114-115
metabolismo 163-168, 173-181, 184
migração contracorrente 110, 121
migração para os vasos mesentéricos 73
morfologia 64-70
morfologia das fêmeas 68-70
oviposição 73
percentual de recuperação em diversos hospedeiros 110-111, 121
proporção entre machos e fêmeas 111, 121
resposta imunológica do hospedeiro 117-119
sistema digestivo 66
sistema excretor 68
sistema reprodutor feminino 68-70
sistema reprodutor masculino 66-67, 70
técnicas de estudo 63-64
verme imaturo (*S. mansoni*)
desenvolvimento no hospedeiro definitivo 107, 109, 112-113, 121
vesícula cerebral (*B. glabrata*) 359, 361, 363, 364, 368, 374, 376
Vialleton, Louis 34
videolaparoscopia 707
vírus B da hepatite e *Schistosoma mansoni*, co-infecção por 790, 798

W

War Office (Grã-Bretanha) 35
Wasserman, August Paul von 897
Western-blot 260
whole genome shotgun 250
Williams, J. S. 897, 906
Wucherer, Otto 36
Wuchereria bancrofti 36

Y

YACs *ver* cromossomos artificiais de levedura
Yoshimoto, M. 897

Z

ZMB *ver* zona da membrana basal
zona da membrana basal 89, 98, 100, 103
Zoological Society de Londres 34